

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Fribourg (Schweiz)  
Direktor: Prof. Dr. A. Faller

## **Paraffin als histologischer Werkstoff**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von  
**MODESTE PILLER**  
von Bonnefontaine

Wien 1953

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von  
Herrn Prof. *E. Ludwig* (Basel) und Herrn Prof. *A. Faller* (Fribourg)

Tag der Promotion: 23. Januar 1953

# Sonderdruck aus: »MIKROSKOPIE«

ZENTRALBLATT FÜR MIKROSKOPISCHE FORSCHUNG UND METHODIK

*Hauptschriftleitung Prof. Dr. Alfred Grabner und Prof. Dr. Josef Kisser*

Verlag G. Fromme & Co., Wien V, Nikolsdorfer Gasse 11 · Tel. B 23-3-56

---

*Band 8 / Heft 5/6*

*1953*

*Seiten 146—172*

---

(Aus dem Anatomischen Institut der Universität Fribourg [Schweiz], Direktor: Prof. Dr. A. Faller)

## **Paraffin als histologischer Werkstoff**

**Von MODESTE PILLER**

*Mit 13 Abbildungen*

*Überreicht vom Verfasser*



(Aus dem Anatomischen Institut der Universität Fribourg [Schweiz]. Direktor: Prof. Dr. A. Faller)

## **Paraffin als histologischer Werkstoff**

**Von MODESTE PILLER**

*Mit 13 Abbildungen*

### **Inhalt**

Allgemeine chemische und physikalische Eigenschaften des Paraffins

Das Molekel

Die Übergangspunkte

Dehnung und Dichte

Der Paraffinkristall

Spezielle für die histologische Technik wichtige Eigenschaften von Paraffin

Luftgehalt und Sprengelung

Ölgehalt und Brechtest

Plastizität

Viscosität

Einfluß von gewissen Zusätzen und von verschiedenen Erstarrungsbedingungen

Übliche Paraffinzusätze

Farbe, Durchsichtigkeit und Sprenkelung

Kristallgefüge im Leerschnitt

Bruchfläche

Härte

Spanbildung

Grundlagen der Paraffin-Einbettungsmethode

Erstarrung und Schneidbarkeit

Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit soll die Beziehungen zwischen den theoretischen physikochemischen Daten des Paraffins (P.) und seiner praktischen Verwendung im Histiologielabor untersuchen.

## Allgemeine chemische und physikalische Eigenschaften des Paraffins

1830 hat REICHENBACH bei der mikroskopischen Untersuchung von Buchenholzteer zum erstenmal P.-Kristalle beobachtet. Heute wird das P.-Wachs aus einem bei der Petroleumdestillation entstehenden Schmieröl durch Abkühlung gewonnen. Die teils kristalline, teils amorphe Masse wird durch verschiedene Prozeduren („Sweating“) gereinigt, gebleicht und in bestimmte Schmelzpunktgruppen gesondert in den Handel gebracht.

### Das Molekel

Die Molekularstruktur von P. erscheint zunächst als einheitliches Gefüge: Kohlenstoff ist in einfacher Bindung an Kohlenstoff gekettet, und alle freien Valenzen sind durch Wasserstoffatome abgesättigt. Die chemische Reaktionsbereitschaft von P. ist gering; nicht einmal rauchende Salpetersäure ist in der Lage, diesen „Paraffinis-Stoff“ anzugreifen. Je nach Kettenlänge erhält man eine Reihe von Homologen, die „Paraffine“, von der allgemeinen Formel  $C_n H_{2n+2}$ . Man nimmt an, daß sich die Kettenglieder in Zickzackform aneinanderreihen. Nach HUBBARD (1945) soll eine Spiralstruktur wahrscheinlicher sein.

Das aus Petroleum gewonnene P.-Wachs, wie es in der Histologie gebräuchlich ist, stellt gewöhnlich Ketten von 20—35 C-Atomen dar (im Burma-P. z. B. 21—34) mit einem Schmelzpunkt (Smp.), der über  $30^{\circ}C$  liegt. Die Kettenlänge kann aber weit höher gehen; so wurde im „Singu-Field of Burma“ ein P. isoliert, das die Formel  $C_{57}H_{116}$  aufweist, mit einem entsprechend hohen Smp. von  $96,5^{\circ}C$ .

Für das Verständnis des physikalischen Verhaltens von P. müssen folgende Strukturvariationsmöglichkeiten beachtet werden: Verschiedene Zahl der Kohlenstoffglieder (Kettenlänge), Winkelungen zwischen den einzelnen Gliedern, Art der Verzweigung der Ketten, Ringbildungen (mit entsprechend geringerer Wasserstoffzahl).

Wohl besteht die Möglichkeit, synthetisch P. ganz bestimmter C-Zahl und Struktur herzustellen. Die praktisch zur Verwendung kommenden P. stellen bunte Gemische dar, deren Zusammensetzung je nach Herkunft und Art der Ausbeute in breiten Grenzen Schwankungen unterworfen ist, von Verunreinigungen ganz abgesehen. Letztere kommen in der Hauptsache aus der Reihe der Oleine mit der allgemeinen Formel  $C_n H_{2n}$  (RICHTER-ANSCHÜTZ 1928).

Es wird deshalb weiter nicht verwundern, wenn die Angaben verschiedener Autoren über das physikalische Verhalten von Handels-P. oft Unstimmigkeiten aufweisen und die physikalischen Daten nicht scharf definiert sind.

## Die Übergangspunkte

Man versteht unter Übergangspunkten, „Transition points“ (Tr. P.), eines Stoffes diejenigen Konstellationen der physikalischen Bedingungen, welche die Struktur bzw. die gegenseitigen Beziehungen der physikalisch wirksamen Einzelteilchen (Moleküle oder Molekülaggregate) wesentlich verändern. Sie sind daran zu erkennen, daß der Stoff in Bezug auf mehrere physikalische Eigenschaften eine diskontinuierliche Veränderung erfährt.

Der Siedepunkt (Sdp.) des P. liegt oberhalb 150°C. Einem Sdp. von 165°C entspricht ein Smp. von etwa 45°C, einem Sdp. von 208°C ein Smp. von etwa 63°C. Der Sdp. kann unter Umständen auch oberhalb 300°C liegen (RICHTER-ANSCHÜTZ 1928, YANNAQUIS 1933). Erhitzen auf mehr als 120°C bewirkt Braunverfärbung unter Sauerstoffverbrauch, also Oxydation (PRAGER und JACOBSON 1918).

Bei einheitlichen Stoffen ist der Smp. durch eine einzige Zahl gegeben. Das übliche Handels-P. natürlicher Herkunft stellt, auch nach Fraktionierung, ein Gemisch dar, welches im Gegensatz zu reinem (synthetischem) P. keinen Smp., sondern einen mehr oder minder großen Schmelzbereich aufweist. Bei Handels-P. hält sich dieser Schmelzbereich gewöhnlich im Rahmen von 1–2°C.

Bei experimentellen Arbeiten darf nicht übersehen werden, daß die P.-Sorte durch den Smp. nicht genügend definiert wird. Smp. und Molekulargewicht verlaufen nicht streng gleichsinnig. P. mit gleichem Smp. weist nicht notwendigerweise gleiches Mol.-Gewicht auf und umgekehrt (CARPENTER 1926). Dies ist verständlich, wenn man sich vor Augen hält, daß das Mol.-Gewicht nicht das einzige Moment darstellt, das den Smp. bestimmt; Verzweigungsgrad, Ringbildungen, vielleicht auch verschiedene Winklungen in der Molekülkette sind mitbestimmende Faktoren.

Drei Methoden der Smp.-Bestimmung seien hier angeführt: Die erste ist einfach und rasch, die zweite genauer, die dritte eignet sich für Serienuntersuchungen.

Ein Becherglas wird mit Wasser zu Dreiviertel aufgefüllt bei etwas höherer Temperatur als der vermutliche Smp. Man bringt einen P.-Tropfen von höchstens 6 mm Durchmesser in das Becherglas und läßt unter beständiger Temperaturkontrolle abkühlen. Ablesen, sobald sich im P.-Tropfen ein weißes Häutchen bildet. Achtung auf Atmungs- und Zugluft! (KISSER 1927.)

Etwas P. wird in eine dünnwandige Kapillare aufgezogen und darin 24 St. belassen. Die gefüllte Kapillare wird im Wasserbad langsam erwärmt (1° pro Min.), bis das P. an den Rändern durchsichtig wird (KISSER 1927).

Kleine Aluminiumzylinder werden an ihren leicht konvexen Enden mit je einem Tropfen P. auf einer Messingplatte aufgeklebt. Diese wird nach langsamem Abkühlen in ein Wasserbad eingetaucht und die Temperatur erhöht. Beim Smp. des P. fällt der entsprechende Zylinder ab (Koch und andere 1938).

Der Smp. einer Mischung zweier P.-Sorten läßt sich nach einfacher Formel errechnen:

$$\frac{a \cdot A + b \cdot B}{A + B} = C$$

A = Teile mit Smp. a, B = Teile mit Smp. b, C = Smp. der Mischung.

Gewöhnlich liegen die Smp.-Werte zwischen 38 und 70°C, wobei einzelne Fraktionen noch höhere Werte aufweisen können. Bei Smp. 54–60°C pflegt man von Hart-P., bei 38–42°C von Weich-P. zu sprechen, ohne daß dadurch ein prinzipieller Unterschied gegeben wäre.

Die Schmelzwärme (d. i. die Wärme, welche nötig ist, um am Smp. 1 g P. vom festen in den flüssigen Zustand überzuführen) beträgt 36 cal. (ULLMANN 1928).

Neben dem Sdp. und dem Smp. weist P., wie einige andere Stoffe, in seiner festen Phase einen oder zwei zusätzliche Übergangspunkte auf. An diesen spielen sich tiefgreifende Veränderungen im intermolekularen bzw. interkristallinen Gleichgewicht ab, welche sich im wesentlichen in einer Umkristallisierung äußern.

Tabelle 1. Smp. von n-Kohlenwasserstoffen, unverzweigte, reine Paraffine mit n Kettengliedern (vereinfacht nach GRAY 1943).

| n  | t°C    | n  | t°C    |
|----|--------|----|--------|
| 6  | —94,0  | 33 | 71,6   |
| 10 | —29,72 | 36 | 76     |
| 15 | + 10   | 39 | 78,9   |
| 17 | + 22   | 42 | 82,9   |
| 21 | 40,4   | 52 | 94     |
| 24 | 51,1   | 62 | 100,5  |
| 27 | 60     | 70 | 105,25 |
| 30 | 66     |    |        |

Beim Abkühlen von P. im Uhrglas stellen wir nacheinander folgende Veränderungen fest:

Der Trübungspunkt entspricht dem Auftreten der ersten feinsten Nadeln der höchst schmelzenden Komponente. Er tritt naturgemäß nur bei uneinheitlichem P. auf und liegt je nach Fraktionierungsschärfe mehr oder weniger oberhalb des eigentlichen Smp. Der Erstarrungsprozess zum festen Körper geht sehr rasch vor sich. Wegen der starken Wärmeabgabe tritt beim Erstarren wie üblich eine Verzögerung der Abkühlung ein, sofern der Wärmeentzug gleichmäßig ist; bei einheitlicher Masse sogar ein Stillstand der Abkühlung. Dies tritt auf sog. Abkühlungskurven sehr deutlich hervor. Unter dem Mikroskop sieht man in dünner Schicht sehr schöne Nadeln, besonders wenn überschüssiges P. abgegossen wurde (CARPENTER 1926). Makroskopisch ist diese Abkühlungsphase durch Opazität und samtartige Beschaffenheit der Oberfläche charakterisiert.

Etwas 10° unterhalb des Smp. für niedrig schmelzendes, 15° für höher schmelzendes P., wird die Masse durchsichtig und die Oberfläche glänzend. Es ist dies das Zeichen einer tieferen strukturellen Umlagerung im Sinne einer Umkristallisierung, was man unter gewissen Umständen direkt sehen kann, indem z. B. Nadelkristalle in Plättchenform übergehen (CARPENTER 1926, DEMPSTER 1943).

Die Wärmeentwicklung (SCOTT-HARLEY 1939) und die diskontinuierliche Änderung der Durchsichtigkeit (PIPER 1931), des Dehnungskoeffizienten (SEYER u. a. 1944), des Lösungsvermögens für Luft, der Löslichkeit in Eisessig (CARPENTER 1926), des Verhaltens gegenüber X-Strahlen (MÜLLER 1932) und der elektrischen Leitfähigkeit (JACKSON 1935) sind als Folgeerscheinungen der Umkristallisierung zu deuten.

SCOTT (1939) hat mit einer Spezialvorrichtung noch einige Grade unterhalb des Smp., im Moment der Umkristallisierung, flüssiges P. zwischen den Kristallen festgestellt. Es ist dies ein unklarer Einzelbefund. Zweifelhaft erscheint die Mitteilung von DANGL (1941), welcher nach Anfärben sogar bei Zimmertemperatur „flüssiges“ P. zwischen den Kristallen „gesehen“ haben will.

Die Abkühlungskurve („cooling curve“, Abb. 1) wird im Prinzip so gewonnen, daß die Temperatur einer sehr kleinen Menge P. bei gleichmäßigem Wärmeentzug fortlaufend gemessen wird. Interessant ist der allgemeine Verlauf der Kurve. Die Einzelwerte sind weniger wichtig, da der Wärmeentzug praktisch nicht ganz konstant gehalten werden kann und die Kurven je nach Methode im Detail verschieden ausfallen (SCOTT-HARLEY 1939).

A—E stellt die gewöhnliche Temperaturkurve in bezug auf die Zeit dar.

Die Kurve A'—E' gibt jeweils das entsprechende Verhältnis von  $\frac{dt}{dT}$  (reziproker Wert der Geschwindigkeit der Temperaturabnahme) zur Temperatur an. Sie zeigt sehr klar die Geschwindigkeit des Temperatursturzes bei den verschiedenen

Temperaturen. Diese Geschwindigkeit beträgt zwischen B und C (bzw. B' und C') annähernd Null (was den Wert von  $\frac{dt}{dT}$  annähernd auf Unendlich bringt) und geht bei D bzw. D' über ein zweites Minimum. Die Temperatur bei B'—C' entspricht dem Smp., diejenige bei D' dem Übergangspunkt, denn der Übergangspunkt ist diejenige Temperatur, bei welcher eine Umkristallisierung eintritt mit entsprechender Wärmeabgabe und Veränderung physikalischer Eigenschaften „oder besser der Punkt, bei welchem dieser Übergang am meisten Wärme abgibt“ (LORD 1939). Der Übergangspunkt tritt um so schärfer hervor, je einheitlicher die P.-Fraktion ist. Auch der Erstarrungsbereich ist um so kleiner, je enger die Smp. der gemischten Sorten beieinander liegen. Nach Beobachtungen von LORD (1939) und SCOTT-HARLEY (1939)

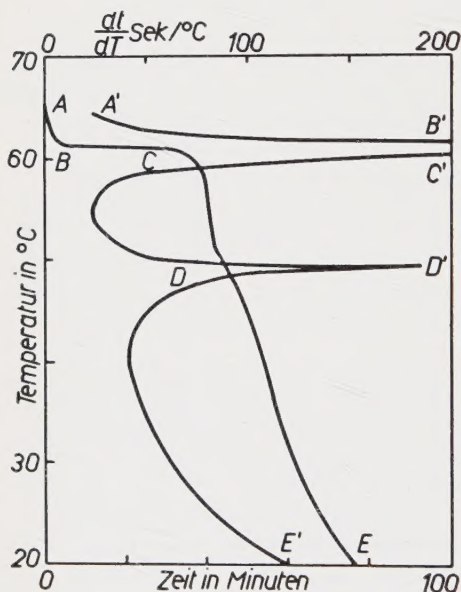


Abb. 1. Abkühlungskurve von P. A—E: Temperaturabfall im P. bei gleichmäßigem Wärmeentzug. A'—E': Reziproker Wert der Geschwindigkeit dieses Temperaturabfalles ( $dt/dT$ ) bezogen auf die Temperatur (nach LORD 1939).

ist er gewöhnlich um so näher dem Smp., je höher der Smp. liegt und je einheitlicher das P. ist. Die Messungen von YANNAQUIS (1933) ergeben allerdings gerade das Umgekehrte.

Nicht alle P.-Sorten geben einen klaren Übergangspunkt. Mischen von verschiedenen Sorten kann ihn zum Verschwinden bringen. Die Mischung von zwei P. ohne Übergangspunkte kann einen solchen sichtbar machen. Unter Umständen läßt sich der Übergangspunkt nur beim Abkühlen, nicht aber beim Erwärmen nachweisen (SEYER u. a. 1944).

Handels-P. stellen auch unter diesem Gesichtspunkt betrachtet eine sehr uneinheitliche Mischung dar.

Über die Entstehung dieser Übergangspunkte wurden die verschiedensten Hypothesen aufgestellt. Die Vermengung mit niedrig schmelzenden Komponenten, das Luftlösungsvermögen, das Gegenspiel zwischen Dehnungskräften und Plastizität wurden als Ursache angesehen. Da aber keiner dieser Faktoren allein das Bestehen eines Übergangspunktes erklären kann, dürfte eine tiefgreifende Umwandlung im intermolekularen Gleichgewicht die Ursache sein, ähnlich wie es beim Smp. und Sdp. zutrifft (CARPENTER 1926).

## Dehnung und Dichte

Verschiedene Versuchsanordnungen erlauben die Wärmedehnung bzw. Kältekontraktion quantitativ zu erfassen. Stets muß vorerst die Luft aus dem P. mittels Dampfbehandlung oder wiederholten Erwärmens ausgetrieben werden. Der schlechten Leitfähigkeit von P. muß Rechnung getragen werden.

In flüssigem Zustand kann die Dichte direkt mit einem Pyknometer gemessen werden. Im festen Zustand läßt sich die Dichte nach der Formel  $\frac{\text{Gewicht}}{\text{Volumen}}$  errechnen (CARPENTER 1926).

Die typische Volumen/Temperatur-Kurve zeigt folgenden Verlauf: (Abb. 2) A—D entspricht der Volumenzunahme der festen Phase bei steigender Temperatur.

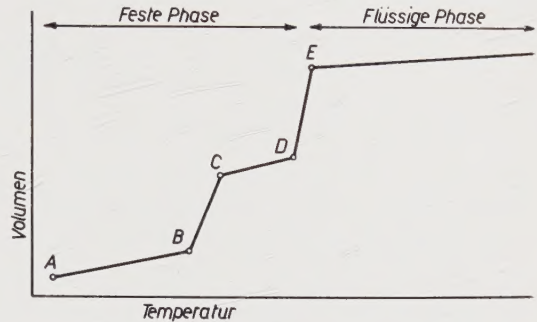


Abb. 2. Beziehung des Volumens einer bestimmten Menge P. zur Temperatur (umgezeichnet nach SEYER u. a. 1944).

B—C zeigt die erhebliche Volumenzunahme durch Umkristallisierung am Übergangspunkt, D—E eine entsprechende Zunahme des Volumens im Schmelzbereich.

Nach CARPENTER (1926) beträgt die Wärmedehnung von etwa 30°C bis zum Smp. etwa 19 vol%. ROMEIS (1948) gibt Werte von 8—20% an. Der Wert von 19 vol% ist unabhängig von der absoluten Höhe des Smp. Durch Verwenden eines P. mit niederem Smp. kann also die Kältekontraktion nicht vermindert werden. Der

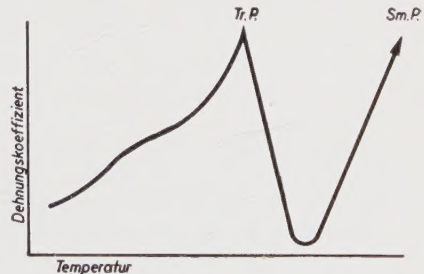


Abb. 3. Beziehung des Dehnungskoeffizienten von P. zur Temperatur. Tr. P.: Übergangspunkt („Transition Point“); Sm. P.: Schmelzpunkt (umgezeichnet nach CARPENTER 1926).

Dehnungskoeffizient ist nicht konstant. Graphisch im Verhältnis zur Temperatur dargestellt hat die Kurve Dehnungskoeffizient/Temperatur im festen Phasenbereich folgenden Verlauf: Abb. 3.

Bemerkenswert ist die starke Beschleunigung der Volumenveränderung am Übergangspunkt der festen Phase.

Die Kältekontraktion als solche ist für die histologische Technik von untergeordneter Bedeutung. Der ganze Block wird gleichmäßig davon erfaßt; durch das Strecken der Schnitte wird sie weitgehend ausgeglichen (WAEGER 1901).

Interessant sind die Beziehungen der Zugfestigkeit zur Dichte. Oberhalb von etwa 30°C läßt sich die Zugfestigkeit nicht bestimmen, weil auch sehr kleine Kräfte

(wenn sie lange genug einwirken) in diesem Temperaturbereich genügen, um P. zu deformieren. Es ist dies die bekannte Eigenschaft des plastischen („halbflüssigen“) Zustandes. SEYER und KURAMITSU (1935) haben bei einem gewissen P. (Parawax, Smp. 54,4°C) sowohl die Zugfestigkeit wie die Dichte von -10 bis 30°C bestimmt. Die angeführten Diagramme zeigen, daß Zugfestigkeit und Dichte im großen gleichsinnig

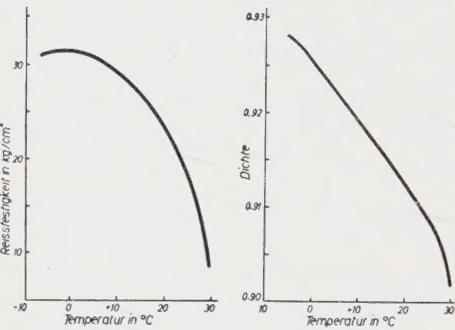


Abb. 4 und 5. Beziehung von Reißfestigkeit eines bestimmten P. zur Temperatur (Abb. 4); Beziehung von Dichte desselben P. zur Temperatur (Abb. 5) (umgezeichnet nach SEYER u. a. 1935).

verlaufen, daß aber keine streng lineare Beziehung zwischen den beiden Größen besteht (Abb. 4 und 5). Im Temperaturbereich unter 0°C bilden sich feinste Risse in der P.-Masse, was die Zugfestigkeit etwas herabsetzt. Beispiele für die Dichte von P.:

| P.-Sorte                | Smp.   | Dichte | Autor                    |
|-------------------------|--------|--------|--------------------------|
| „Geschmolzenes Hart-P.“ | 54,6°C | 0,781  | ÜLLMANN, 1928            |
| „Parawax“, bei 20°C     | 54,4°C | 0,912  | SEYER u. KURAMITSU, 1935 |
| P. „Ciba“, bei 60°C     | 50,1°C | 0,78   | PILLER, 1953             |

Es ist bei P. schwierig, allgemein gültige Zahlenwerte anzugeben. Auch wenn P. ganz bestimmter C-Zahl untersucht werden, treten gewisse Unstimmigkeiten auf, z. B. daß P. mit 29C weniger dicht erscheint als solches mit 28 (SEYER u. a. 1944).

Der Paraffinkristall

Die Kristallographie von reinem P. ist ein sehr komplexes Problem. Die Beurteilung der Verhältnisse bei Handels-P. unterliegt leicht mannigfaltigen Fehlschlüssen.

Physikalisch wohl definierte Kristallisationssysteme wurden von YANNAQUIS (1933), GRAY (1943) wie auch von HUBBARD (1945) u. a. beschrieben. Auskristallisieren von n-P. ergibt nach GRAY mindestens vier verschiedene Modifikationen.

Hexagonales System: Die Moleküle liegen Seite an Seite in sechseckiger Anordnung gebündelt, den sechs Kanten eines Bleistiftes vergleichbar, und rotieren frei um ihre Längsachsen (α-Form).

Orthorhombisches System: Die Moleküle haben keine Rotationsfreiheit mehr; die durch ihre Enden gebildete, auf die Molekülachse senkrecht gestellte Fläche entspricht einem abgeflachten Sechseck, d. h. einem Rhombus (β-Form).

Unbestimmtes, monoklines oder triklines System: Anordnung ähnlich wie unter β. Die Moleküllängsachsen sind jedoch gegen die Ebene, in welcher ihre Enden liegen, um 73° abgewinkelt (γ-Form).

Gleiches System wie unter γ mit einer Winkelung von 61°30'. Diese Modifikation wurde nur nach Auskristallisieren aus Lösungen beobachtet, nicht aber durch Abkühlung der geschmolzenen Masse oder durch Umkristallisierung am Übergangspunkt (δ-Form).

Je nach kleinerer oder größerer, gerader oder ungerader Anzahl der Kettenglieder im Molekül erhält man diese oder jene Formen. Die einzelnen Homologen treten je nach Auskristallisierungsbedingungen in mehreren Modifikationen auf.

YANNAQITS (1933) berichtet über Kristallisationsstudien im polarisierten Licht und beschreibt orthorhombische sowie hexagonale Systeme, wobei gewisse reine P. je nach Temperatur in zwei orthorhombischen und, in Smp. Nähe, in einer hexagonalen Modifikation kristallisierten (zwei Übergangspunkte!), während andere nur in je einem hexagonalen und einem orthorhombischen System vorkamen.

Bei der Beurteilung des mikroskopischen Bildes müssen wir uns vor Augen halten, daß es sich oft um keine echten Kristalle im Sinne genau definierter geometrischer Strukturformen, sondern um Kristallaggregate, sog. Kristallite, mit mehr oder minder regelmäßigen Oberflächen handelt (RHODES u. a. 1927).

Es gibt zwei Möglichkeiten P.-Kristalle darzustellen, Auskristallisieren aus einer Lösung oder Erstarrenlassen der geschmolzenen Masse. Das erste Verfahren hat für die Histologie keinerlei Bedeutung, gibt aber isolierte, gut definierbare Kristalle. Warum einmal diese und einmal jene Kristallform auftritt, wurde der Natur des Lösungsmittels, der Konzentration, der Temperatur, der Abkühlungsgeschwindigkeit, Verunreinigung oder „Inhibitoren“ zugeschrieben (CARPENTER 1926, BUCHLER und GRAVES 1927, KATZ 1930, FUSSTEIG 1937, DEMPSTER 1943 usw.). FERRIS und COWLES (1945) haben mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß es in erster Linie auf die chemische Struktur des untersuchten P. ankommt. Bestimmte P.-Sorten kristallisieren trotz verschiedenster Bedingungen stets als Plättchen bzw. als Nadeln.

Reines P. kristallisiert in Form von Platten, Nadeln und uncharakteristischen Kristallen („mal-cristalline P.“). Von P. mit verschiedenem Smp. aber gleichem Sdp. entsprechen die Formen mit höherem Smp. den Platten (gestreckte Ketten?), die Formen mit mittlerem Smp. den uncharakteristischen Kristallen (verzweigte Ketten?), die Formen mit tiefstem Smp. den Nadeln (zyklische Ketten?). Langsames Auskristallisieren gibt größere Formen, besonders bei Nadeln und Platten. Bei uneinheitlichen P. (z. B. Handels-P.) haben die Nadeln und noch mehr die uncharakteristische Modifikation unter gewissen Umständen das Vermögen, ihre Kristallform der ganzen Masse mitzuteilen, besonders wenn sie zuerst ausfallen. Darum findet man auch bei uneinheitlichem P. eine einheitliche Kristallform. Konzentration, Temperatur und Lösungsmittel sind oft von so entscheidendem Einfluß, daß einige Autoren die wesentliche Bedeutung der Molekülstruktur gar nicht berücksichtigen.

Ähnlich sind die Verhältnisse bei der Erstarrung von geschmolzenem P. Rasches Erstarren beeinflußt die Kristallbildung in analoger Weise wie rasches Auskristallisieren aus Lösungen. Die Kristalle sind klein, unregelmäßig, gedrängt und verbacken. Durch sehr langsames Erstarren können schöne Kristalle von einigen Millimeter Länge erzielt werden (Erstarren in einer Dewarflasche z. B.). An der Oberfläche bilden sich zunächst Nadeln, erst bei 10–15° unterhalb des Smp. erfolgt unter Umständen eine Umlagerung zu flachen Plättchen.

Wahrscheinlich hat man sich den Kristallaufbau in einem P.-Gemisch von deutlich unterschiedlichem Smp. folgendermaßen vorzustellen: Sehr wenig oberhalb des Smp. treten die ersten Kristallisationskerne auf. In der Abkühlungskurve erscheint dieser sog. Trübungspunkt als kleine Abflachung. Makroskopisch wird das P. milchig trüb und sehr viscos.

Die Kristallisationskerne werden naturgemäß durch die hochschmelzende P.-Fraktion bedingt. Die Erstarrung verursacht durch ihre Wärmeabgabe eine — freilich sehr umschriebene — Temperaturerhöhung bzw. Abkühlungsverzögerung. Die niedrigschmelzende Fraktion wird vorerst am Erstarren gehindert. Erst wenn sich um den gebildeten Kern fast alles hochschmelzende P. niedergeschlagen hat und die Wärmebildung nachläßt, lagert sich das umgebende, nunmehr in der Hauptsache

niedrigschmelzende P. in dünner Schicht an. Durch diesen Erstarrungsprozeß steigt die Temperatur wiederum. Das Spiel beginnt von neuem bis zum Kontakt mit einem Nachbarkristall. So wechseln niedrig- und hochschmelzende konzentrische Lamellen. Auf diese Weise erklärt DEMPSTER (1943) die Schichtung der Kristalle. Wenn man einen P.-Schnitt kurz mit einem milden Lösungsmittel behandelt, so wird das tief-schmelzende, besser lösliche P. teilweise herausgelöst, und das Skelett aus Hart-P. bleibt zurück.

Wenn man im Polarisationsmikroskop dünn geschnittenes P. betrachtet, findet man nicht etwa schön geformte Nadeln, sondern durch die Kontraktion und den Schneideprozeß stark deformierte Bänder und Bröckel, die sich zu einer bunten Mosaikstruktur zusammendrängen. Die einzelnen Elemente sind deformierte Kristalle und Kristallite, d. h. Aggregate kleinster Kristalle, und erreichen einen Durchmesser bis etwa  $100\mu$  und eine Länge, die etwa das Fünffache beträgt. In den rasch er-

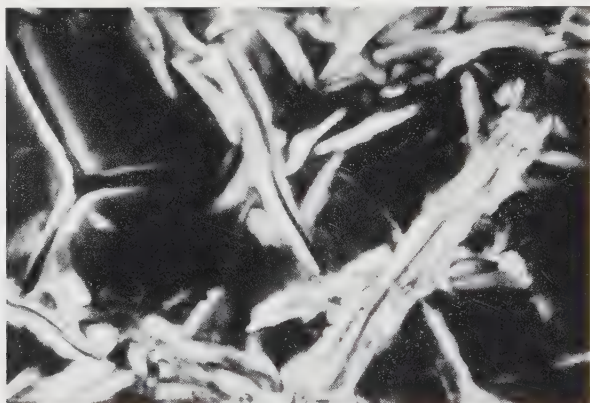


Abb. 6. Tropfen von mehrfach gebrauchtem Paraffin mit Bienenwachsuzusatz, in dünner Schicht auf Objektträger erstarrt. Langsame Erstarrung. Nadeln sehr schlank und leicht torquiert. In der linken Bildhälfte eine typische Sternfigur. — Pol.-opt. Aufn.; Ok. periplan 6; Obj. 44 (SPENCER); Schwingungsebenen parallel den Bildkanten.

starrten Randpartien bilden sich kleinere, unregelmäßig geformte Körnchen. Zwischen den stark lichtbrechenden Kristallgrenzen liegen schmale Spalten.

Im durchfallenden Licht sieht man bei starker Abblendung auf den Quer- und Längsschnitten der einzelnen Elemente die beschriebene konzentrische Lamellenstruktur. Die einzelnen Schichten — gewöhnlich vier oder mehr — sind durch feine, helleuchtende, wellig verlaufende Linien voneinander getrennt.

Bei Handels-P., auch ohne Zusätze, sieht man oft in den Kristallen scharf begrenzte, stark lichtbrechende, kleine plumpe oder größere schlanke, nadelähnliche Einschlüsse, vermutlich Verunreinigungen.

Wenn man schöne P.-Kristalle sehen will, läßt man einen dünnen P.-Tropfen auf dem Objektträger langsam erstarren (Abb. 6) und beobachtet am besten im Polarisationsmikroskop. Die P.-Kristalle des erstarrten Blockes kann man sich auf der Bruchfläche mittels Binokularlupe oder Auflichtmikroskop deutlich sichtbar machen. Dieses Verfahren zeigt im Zentrum des Blockes schöne Nadeln, die sich zum Teil innig durchflechten, zum Teil auch zu Bündeln angeordnet sind. Die rasch erstarrten peripheren Anteile geben das Bild einer leicht krümeligen, ziemlich homogenen Oberfläche. Im Bereich der Sprengung haben die Kristalle den gegenseitigen Kontakt verloren und bilden ein lockeres Balkchenwerk.

Ähnliche Bilder erhält man auch bei den üblichen P.-Mischungen.

## Spezielle für die histologische Technik wichtige Eigenschaften von Paraffin

### Luftgehalt und Sprenkelung

Luft kann sich sowohl in den Kristallen wie in den interkristallinen Räumen befinden. Folgender Versuch gibt einen gewissen Anhaltspunkt über die quantitativen Verhältnisse. Etwas P. wird bei etwa 30°C an der Luft abgekühlt und gewogen, dann im Wasserbad auf etwa 70° C erhitzt. Die ausgetriebene Luft wird über Hg geleitet und quantitativ bestimmt.

In 1 g P. mit Smp. 52°C läßt sich auf diese Weise 0,08 cm<sup>3</sup> Luft nachweisen (7 vol%); in 1 g P. mit Smp. 56°C 0,13 cm<sup>3</sup> (12 vol%). Bei hochschmelzendem P. mit Stearinzusatz werden diese Werte auf 0,18 cm<sup>3</sup> bzw. 16 vol% erhöht. Wird das P. anfänglich mit Luft geschüttelt, erhält man 2—3 vol% Luft mehr (CARPENTER 1926).

Die für den Histologen so lästige Sprenkelung erfolgt dann, wenn sich zwischen den P.-Kristallen breite Spaltsysteme ausbilden. Diese enthalten nicht nur Luft, sondern auch verschiedene Konzentrationen und Mischungen von flüchtigen Ölen, Vorharzen usw. (CARPENTER 1926, ROULET 1948). Der Kontinuitätsverlust der Kristalle tritt gewöhnlich beim Erstarren auf, in anderen Fällen ist er durch gewaltsames Pressen der erstarrten Masse bedingt („stress-opacity“, NADAI 1931, DEMPSTER 1943).

Daß die Sprenkelung beim Erstarren der Masse vorwiegend im Zentrum des Blockes auftritt, hat folgende Bewandnis:

Gleich beim Erstarren wird das Lösungsvermögen von P. für Luft minimal. Beim Erstarren der äußeren Schicht der P.-Masse wird die freigewordene Luft vorerst nach außen abgegeben, z. T. aber auch gegen den noch flüssigen Kern zu, so daß hier bald eine Sättigung zu erwarten ist. DEMPSTER (1943) ist der Ansicht, daß durch die Volumenverminderung der äußeren Partie der Kernanteil unter Druck gesetzt und das Auflösungsvermögen im Zentrum vorübergehend erhöht würde. Dazu ist jedoch zu bemerken, daß die kurz nach der Erstarrung noch recht plastischen Massen wohl keinen nennenswerten Druck auszuüben imstande sind, so daß dieser Faktor praktisch wegfällt. Wenn sich einmal ein relativ dicker Mantel aus festem P. gebildet hat und der letzte Rest im Zentrum im Begriffe steht zu erstarren, kann die freigewordene Luft, die nunmehr relativ reichlich vorhanden ist, nur noch zwischen die Kristalle entweichen. Im Zentrum wird sich ein mehr oder minder leichter Unterdruck geltend machen, da der Volumverlust im Zentrum durch die Einziehung der nunmehr festen Anteile nicht mehr restlos wettgemacht werden kann. Der vorübergehende Unterdruck begünstigt naturgemäß das Freiwerden der gelösten Luft und der flüchtigen Substanzen.

In gutem Einklang mit diesem Erklärungsversuch steht die Empfehlung, zur Verhinderung der Sprenkelung bei größeren Blöcken die Oberfläche längere Zeit durch einen heißen Spatel flüssig zu halten. Man verhindert so die Ausbildung einer unnachgiebigen Mantelschicht. Übergießen des Blockes mit kaltem Wasser ist ein ungünstiges Verfahren.

### Ölgehalt und Brechtest

Die Beimengung von Öl ist infolge der Gewinnungsweise wohl nie ganz auszuschalten. Die Farbe von reinem P. ist weißlich durchsichtig. Nach Ölzusatz in Spuren wird es leicht gelblich und erhält eine weiche, mehlig-krümelige Beschaffenheit. Der Geübte wird bemerken, daß sich die Oberfläche „ölig“ anfühlt. Ein einfaches, natürlich nicht absolutes zuverlässiges Zeichen ist, daß sich auf der Bruchfläche große Platten, ähnlich wie bei Kandiszucker, bilden (CARPENTER 1926). Diese Wirkung im Sinne einer Vergrößerung der Kristalle — was die Durchsichtigkeit der Masse erhöht — geht mit einer Schwächung der interkristallinen Haftkräfte einher. Solches

P. bröckelt sehr leicht, und die Anfälligkeit zur Sprengung wird erhöht. Beides ist für die Histologie unerwünscht.

Für spezielle Zwecke kann der Ölgehalt durch chemische Analyse (ev. kolorimetrisch nach Säurebehandlung) oder durch mechanisches Auspressen bestimmt werden. Der von CARPENTER (1926) angeführte einfache „Brechttest“ gibt schon einen gewissen Aufschluß.

Wird ein P.-Stab (Abb. 7) belastet, so stellt der Quotient  $\frac{W \cdot l}{d^3}$  ein Maß für den Brechwiderstand dar, welches Vergleiche ermöglicht.

d = Durchmesser, l = Distanz der Stützpunkte, W = Gewicht der Belastung, im Moment des Entzweibrechens.

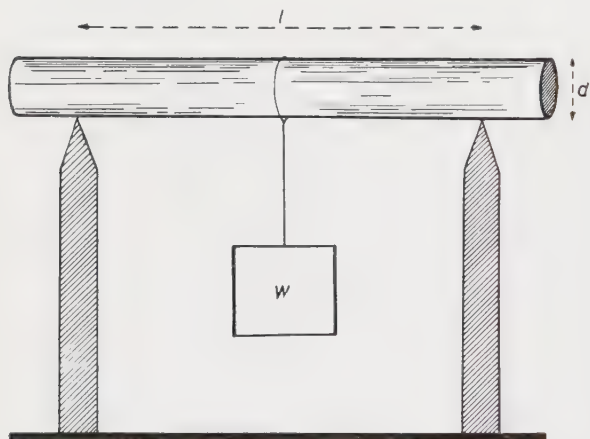


Abb. 7. Anordnung zur Messung des Brechwiderstandes von P.  
Methode CARPENTER 1926.

Bei CARPENTERS Versuch waren  $l = 20$  cm und  $d = 2$  cm. Er erhielt, je nachdem, Werte zwischen 1400 bis 5000 g/cm<sup>2</sup> Querschnitt. Ölzusatz bewirkte sehr niedrige, Stearinzusatz sehr hohe Werte. Geringe Beimengungen ergaben schon deutliche Unterschiede.

Zum Vergleich möge hier ein Wert der nach üblichen physikalischen Methoden bestimmten Reißfestigkeit von reinem P. (Smp. 54,4°C) angeführt sein. SEYER und KURAMITSU (1935) erhielten bei Messungen zwischen minus 10°C und plus 30°C bei plus 3°C den Höchstwert von 32 kg/cm<sup>2</sup>. Zwischen Reißfestigkeit und Dichte besteht kein lineares Verhältnis. Die Biegsamkeit von P. wird durch Ölzusatz nicht erhöht (NELSON und STEWART 1947).

### Plastizität

Plastizität ist die Fähigkeit eines festen Körpers, bei Beanspruchung bleibende Formveränderungen einzugehen ohne Zeichen von Ruptur oder Diskontinuität. Eine Deformation ist plastisch, solange sich die Einzelteilchen gleichmäßig durch „Gleiten“ daran beteiligen.

Da es sich beim Mikrotomschneiden eigentlich um Hobeln handelt, andererseits dabei nur allzu leicht Falten und Risse in der feinen P.-Scheibe auftreten, wird man zwischen Plastizität und Qualität der Schnitte Beziehungen vermuten. Im gleichen Sinne spricht die Beobachtung, daß die Plastizität verschiedener P. besser mit dem Grad der Kompression der Mikrotomschnitte übereinstimmt als die verschiedenen Smp.

Die Plastizitätsprüfung nach DEMPSTER (1943) hat neben ihrer Einfachheit den Vorteil, daß die Verhältnisse beim Schneiden bis zu einem gewissen Grade nach-

geahmt werden (Abb. 8). Der Stab wird bei jedem Versuch mit gleicher Geschwindigkeit fortbewegt; auch müssen die gewohnten Kautelen eingehalten werden (Temperaturkonstanz usw.).

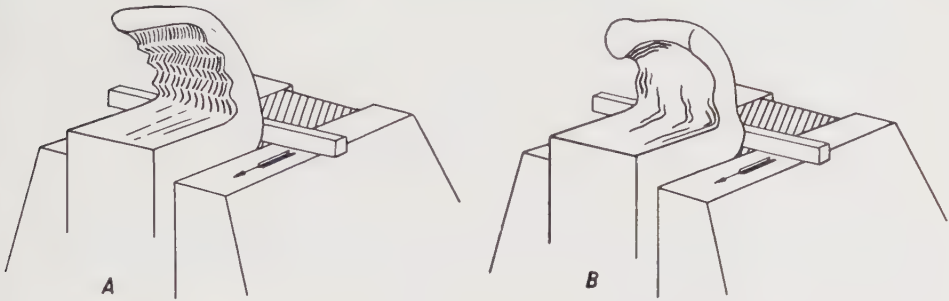


Abb. 8. Anordnung zur Prüfung der Plastizität von P. A: Span unterhalb des „Plastizitätspunktes“; B: Span oberhalb des „Plastizitätspunktes“. Methode DEMPSTER 1943.

Oberhalb einer gewissen Temperatur erscheint der Span zusammengepreßt, abgerundet, mit flacher Oberfläche. Unterhalb dieser Temperatur ist der Span dünn und von regelmäßigen Querrfurchen durchzogen. Der Übergang von der einen zur anderen Form ist so scharf, daß die entsprechende Temperatur als „Plastizitätspunkt“ imponiert. Dieser ist je nach P.-Sorte ungleich weit vom Smp. entfernt und liegt etwa  $20^{\circ}$  tiefer (DEMPSTER 1943).

Viscosität

Über die Viscosität von P., deren Bedeutung später berücksichtigt wird, liegen spärliche Beobachtungen vor. Die klassische Bestimmungsmethode stößt wegen der hohen Temperatur auf Schwierigkeiten, sofern nicht Spezialapparaturen zur Verfügung stehen.

Die nachstehenden Resultate wurden mit folgender einfacher, selbst angefertigter Versuchsanordnung erhalten (Abb. 9).

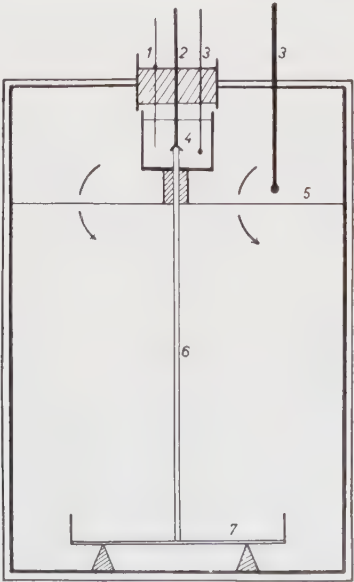


Abb. 9. Versuchsanordnung zur Messung der Viscosität von P. im Thermostaten. 1 Eintauchsonde, 2 Verschlußvorrichtung, 3 Thermometer, 4 flüssiges P., 5 breit durchlöchernte Stützplatte, 6 Kapillare, 7 Auffangschale.

Länge der Kapillare: 31,6, später 29,1, später 21,1 cm. Radius des Kapillarlumens: Bei 20°C 0,03552 cm; bei 60°C 0,03554 cm (theoretisch berechnet und experimentell nachgeprüft).

Die ganze Anordnung wurde in einen Thermostaten eingebaut, so daß der Abfluß in die Kapillare ohne Öffnen des Thermostaten freigegeben und wieder verschlossen werden konnte. Desgleichen ließ sich das Niveau für die Druckbestimmung mittels einer Eintauchsonde auf etwa 2 mm genau ablesen. Sowohl die Temperatur des Thermostaten wie auch die des flüssigen P. wurde fortlaufend kontrolliert.

Die Viscosität ( $\eta$ ) wurde nach der bekannten Formel von POISEUIL berechnet:

$$Q = \frac{\pi}{8\eta} \cdot \frac{r^4}{l} \cdot P \cdot t; \quad \eta = \frac{\pi}{8} \cdot \frac{r^4}{l} \cdot \frac{P}{Q} \cdot t \quad \text{oder}$$

$$\left( \eta = \frac{G}{Q}; \quad Q = \frac{G}{\eta} \right) \quad \eta = \frac{\pi r^4 \cdot \rho^2 \cdot g \cdot h \cdot t}{8 \cdot l \cdot G}$$

$Q$  = Gesamtausflußvolumen in  $\text{cm}^3$ ,  $r$  = Kapillarradius in cm,  $P$  = hydrostatischer Druck in  $\text{g/cm}^2$ ,  $l$  = Kapillarlänge in cm,  $t$  = Zeit in Sek.,  $\rho$  = Dichte,  $h$  = mittlere Niveaudifferenz in cm,  $G$  = Gewicht des ausgeflossenen P. in g.

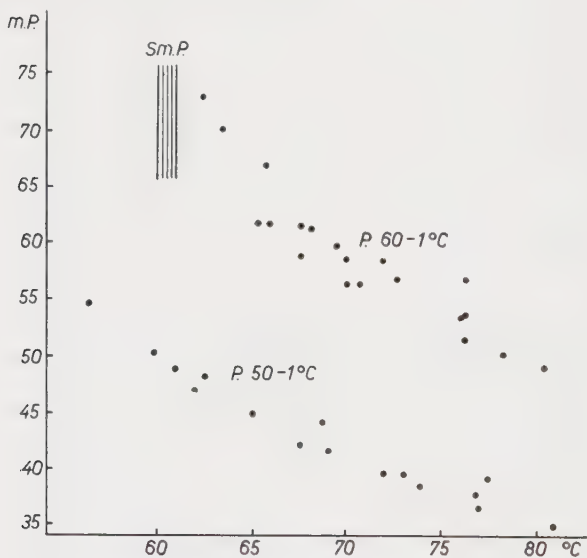


Abb. 10. Viscosität in millipoise von P. 50—51<sup>a</sup> und 60—61<sup>a</sup> „Ciba“ bei verschiedenen Temperaturen.

Der Einfachheit halber wurde für jedes Material ein Mittelwert für die Dichte  $\rho$  eingesetzt. Als Druck wurde das arithmetische Mittel zwischen Anfangs- und Enddruck gesetzt. Der Unterschied ist relativ gering.

mP ist die Viscositätseinheit „millipoise“ =  $1/1000$  „poise“. Man erhält den Wert von  $\eta$  in poise, wenn in C. G. S.-Einheiten gerechnet wird (Abb. 10).

Zum Vergleich:

|             |           |        |
|-------------|-----------|--------|
| Wasser      | bei 100°C | 1,7 mP |
| Äther       | bei 20°C  | 2 mP   |
| Wasser      | bei 20°C  | 10 mP  |
| Bienenwachs | bei 75°C  | 170 mP |

(Wert für Bienenwachs nach eigener Messung; übrige Werte aus BOUTARIC 1938.)

P. ist bei den üblichen Durchtränkungstemperaturen (55—70°C) deutlich zähflüssiger als Wasser (20°C), aber flüssiger als Bienenwachs (75°C).

P. mit hohem Smp. ist deutlich zähflüssiger als Niedrigschmelzendes. Die Viscositätskurve nimmt knapp über dem Smp. einen steileren Verlauf, was für die Durchtränkung nicht ohne Bedeutung ist.

Tabelle 2. Untersuchungsergebnisse der verschiedenen P.-Proben

| Nummer | Material und Blockgröße                                       | Farbe           | Durchsichtigkeit | Sprenkelung | Härte<br>rez. Wert |       | Max. Krist.-Größe<br>auf Schnitt in $\mu$ |                                                | Kristallinität und Zer-<br>klüftung d. Bruchfläche | Späne           |                     |
|--------|---------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|-------------|--------------------|-------|-------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------|---------------------|
|        |                                                               |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    | Aufblätterung   | Zähnelg.            |
|        |                                                               |                 |                  |             | innen              | außen | Orig. Block                               | Block<br>$1\frac{1}{2} \times 3\frac{1}{2}$ cm |                                                    |                 |                     |
|        | 4,5:3 cm; Gl.L.                                               |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    |                 |                     |
| 1      | P 56—58 <sup>0</sup>                                          | glasig          | +++              | ++          | 2,7                | 2,8   | 120/530                                   | 80/410 <sup>1)</sup>                           | +++                                                | +++             | grob                |
| 2      | P 56—58 <sup>0</sup> ; 5% Bw.                                 | gelbl.          | +                | -           | 2,1                | 2,2   | 60/280                                    | 30/160 <sup>1)</sup>                           | +                                                  | ++              | l., sp.             |
| 3      | P 56—58 <sup>0</sup> ; 0,5% Petr.                             |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    |                 |                     |
|        | Ceresin                                                       | glasig          | +++              | +++         | 2,1                | 2,3   | 140/470                                   | 70/350 <sup>1)</sup>                           | ++                                                 | +               | l., sp.             |
| 4      | P 56—58 <sup>0</sup> ; 1% Mastix                              | gelbl.          | +++              | +           | 2,2                | 2,2   | 80/410                                    | 60/350 <sup>1)</sup>                           | ++                                                 | ++              | m'gr.               |
| 5      | P 60—61 <sup>0</sup> ; 11% Stearin<br>(Smp. 58 <sup>0</sup> ) | weiß-m.         | -                | ++          | 2,7 <sup>2)</sup>  | 2,4   | 90/370                                    | 30/230 <sup>1)</sup>                           | +++                                                | +++             | grob                |
| 6      | P 56—58 <sup>0</sup> ; 5% Bw;                                 |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    |                 |                     |
|        | 1% Mastix                                                     | gelbl.          | ++               | -           | 1,8                | 1,9   | 60/410                                    | 30/190 <sup>1)</sup>                           | +                                                  | +               | kl., sp.            |
| 7      | P 60—61 <sup>0</sup> ; 20% Stearin;                           |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    |                 |                     |
|        | 5% Spermacet;                                                 | weiß-m.         | -                | ++          | 1,8                | 1,9   | 70/590                                    | 50/330 <sup>1)</sup>                           | ++                                                 | +               | m'gr.               |
| 8      | 0,3% Petr. Ceresin                                            | gelb-m.         | -                | -           | 2,7                | 3,4   | 40/410                                    | 20/150 <sup>1)</sup>                           | +                                                  | -               | (kr)fein            |
| 9      | P; Bw; mehrm. gebr.                                           | gelb-br.        | -                | -           | 3,7                | 4,0   | 20/290                                    | 10/110 <sup>1)</sup>                           | -                                                  | -               | s. fein             |
|        | do.; überhitzt                                                |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    |                 |                     |
|        | 4:2 cm                                                        |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    |                 |                     |
| 10     | P; Bw. mehrf. gebr.; M.,L.                                    | gelb-m.         | -                | -           | 3,6                | 4,0   | 50/350                                    |                                                | +                                                  | -               | fein                |
| 11     | do.; in fl. Wasser                                            | gelb-m.         | -                | -           | 4,3                | 5,2   | 30/230                                    |                                                | -                                                  | -               | s. fein             |
| 12     | do.; unter fl. Wasser                                         | gelb-m.         | -                | -           | 4,5                | 5,3   | 20/200                                    |                                                | -                                                  | -               | s. fein             |
|        | 1,5:3,5 cm                                                    |                 |                  |             |                    |       |                                           |                                                |                                                    |                 |                     |
| 13     | do.; Gl., L.                                                  | gelb-m.         | -                | -           |                    |       |                                           | 50/230                                         |                                                    |                 |                     |
| 14     | do.; M.; in fl. Wasser                                        | gelb-m.         | -                | -           |                    |       |                                           | 20/120                                         |                                                    |                 |                     |
| 15     | P; 5% Bw.; 20% Stearin <sup>1)</sup>                          | gelbl.-<br>weiß | -                | -           |                    |       |                                           | 40/280 <sup>1)</sup>                           | ++ <sup>1)</sup>                                   | + <sup>1)</sup> | m'gr. <sup>1)</sup> |

<sup>1)</sup> Während 30 Sek. in Wasser von 15°C, dann in Luft von 18°C in runder, dünnwandiger Glasschale gekühlt.

<sup>2)</sup> Geringe Härte wegen Sprenkelung.

br. = braun

kl. = klein

L. = Abkühlung an Luft

M. = Metallform

Gl. = Glasform

kr. = kristallin

m. = milchig

s. = sehr

gr. = grob

l. = lang

m' = mittel

sp. = spitz

## Einfluß von gewissen Zusätzen und von verschiedenen Erstarrungsbedingungen

### Übliche Paraffinzusätze

Wenn sich auch P. als Einbettungsmittel hervorragend bewährt, ergeben sich doch immer wieder gewisse Schwierigkeiten beim Schneiden. Der Schnitt kann sich zusammenschieben oder er kann zerbröckeln. Das Gewebe kann herausbrechen, besonders wenn es in einer Sprenkelungszone liegt. Es gibt recht viele Rezepte zur Vermeidung dieser Schwierigkeiten: Rasches Erstarren in und unter fließendem Wasser, das Benützen von mehrmals gebrauchtem P., der Zusatz von etwa 5% Bienenwachs oder Rhizinusöl, von 10—25% Stearin, von „Auskristallisierungsmitteln“, z. B. 0,1% Lorbeerwachs (ein hochmolekulares Fett), 0,5% Petroleumceresin, 0,1% Ozokerit, 1% Rohgummi oder eine Spur Asphalt. Auch Kombinationen

werden empfohlen, so das Altmanngemisch mit Zusatz von Stearin und Bienenwachs oder die „SSB“-Mischung mit Zusatz von Stearin, Spermacet und Lorbeerwachs („Bayberry wax“) nach WATERMANN (1939). Der synthetische Kohlenwasserstoff „LX 291 Resin“ von der Neville Compagny, Pittsburgh, Pa, scheint wenig Anklang gefunden zu haben; meines Wissens ist dieses Produkt nicht mehr erhältlich (GROAT 1941).

Um einige Vergleiche anzustellen, haben wir Blöcke leer und mit Gewebs-einschließung angefertigt. Als Material wurde gewählt mehrmals gebrauchtes P. mit Bienenwachs-zusatz (bis zu deutlich gelblicher Farbe), reines P., ferner frisches P. mit verschiedenen Zusätzen von Bienenwachs, Stearin, Petroleumceresin, Mastix und Spermacet. Im weiteren wurden die Ergebnisse bei Verwendung desselben Materials mit verschiedener Abkühlung verglichen.

Die Materialproben wurden auf folgende Eigenschaften geprüft, um von ihrer Qualität ein möglichst objektives Bild zu erhalten: Farbe, Durchsichtigkeit, Spre-nkelung, Kristallstruktur, Härte, Spanbildung und Schneidbarkeit (Tab. 2).

Nach Prüfung der Farbe und Durchsichtigkeit wurden die leeren Blöcke ent-zweigesägt und etwaige Sprenkellung der Schnittfläche festgestellt.

### Farbe, Durchsichtigkeit und Sprenkellung

Reines P. ist transparent, glasig. Zusatz von 5% Bienenwachs ergibt leichte Gelbfärbung, die durch längeren Gebrauch in bräunlich-graue Tönung übergeht. Überhitzen des Gemisches ergibt eine mehr braune Farbe. Andere Zusätze lassen die weiße Farbe von P. als milchige Trübung hervortreten.

Die ausgezeichnete Durchsichtigkeit von reinem P. (1)<sup>1)</sup> wird durch Zusatz von 0,5% Petroleumceresin (3) oder 1% Mastix (4) gar nicht, von 5% Bienenwachs (2) nur wenig beeinträchtigt. Zusatz von 11% Stearin (5) oder 20% Stearin, 5% Spermacet und 0,3% Petroleumceresin (7) führt zu intensiver milchiger Trübung.

Die Opazität des Materials wird durch innere lichtreflektierende Grenzflächen bedingt. Sie ist besonders ausgeprägt, wenn in der Masse Einzelteilchen mit ver-schiedenem Brechungsvermögen nebeneinander bestehen, so z. B. bei gasförmigen oder flüssigen interkristallinen Einschlüssen: Deshalb die geringe Opazität von reinem P. und die geringe Durchsichtigkeit von hochprozentigen Mischungen oder von P. mit Sprenkellung. Deshalb auch die leicht bessere Durchsichtigkeit von Block 10 im Vergleich zu Block 11 und 12 (Luftkühlung gibt größere Kristalle, also weniger Grenzflächen). Im übrigen beruht die ausgesprochene Opazität des mehrfach ge-brauchten P. weniger auf dessen Bienenwachsgehalt als auf anderen Faktoren, wie Vergleich von Block 8 und 2 deutlich zeigt. Es sind wohl Spuren von verschiedenen Verunreinigungen in Betracht zu ziehen, welche aus den eingebetteten Gewebs-stückchen herausdiffundieren, die Ausbildung von großen Kristallen verhindern und sich selber in dieser oder jener Form interkristallin ablageren.

Auf Schnitten findet man bei einzelnen Blöcken mehr oder weniger ausge-sprochene Sprenkellung. Nach Zusatz von Bienenwachs wurde sie nicht beobachtet, weder bei langsamem noch bei raschem Erstarren. Die leichte Sprenkellung von reinem P. wurde durch Zusatz von 0,5% Petroleumceresin (3) erhöht, wurde dagegen durch Zusatz von 11% Stearin (5) oder 1% Mastix (4), ferner durch Zusatz von 10% Stearin, 5% Spermacet und 0,3% Petroleumceresin (7) nicht beeinflusst. Wie erwartet bildet sich die Sprenkellung regelmäßig in den von der Oberfläche am weitesten ent-ferten Gebieten aus, was infolge der Nadelbildung auf Schnitten eine mehr oder weniger schmetterlingförmige Figur ergibt. Es ist dies die Blockzone, die zuletzt erstarrt.

<sup>1)</sup> Die hier und auch im folgenden Text in Klammer beige-fügten Zahlen beziehen sich auf die diesbezüglichen fortlaufend nummerierten Angaben in Tabelle 2.

Die Sprengung hängt nicht wesentlich von der Abkühlungsgeschwindigkeit, sondern von den Eigenschaften des Materials ab. Durch Bienenwachs Zusatz läßt sie sich am ehesten verhüten. Das Bienenwachs erhöht die Kohäsionskräfte wie die Plastizität. Beim Volumenverlust der zentralen Blockpartien, die zuletzt erstarren, wird die schon gebildete äußere Schale dank guter Plastizität durch die starken Kohäsionskräfte nach innen gezogen, so daß kein Kontinuitätsverlust auftritt. Bienenwachshaltiges P. läßt sich weniger leicht schneiden (größere Kohäsion) und zerbricht unter der Keilwirkung des eindringenden Messers weniger früh als bienenwachsreies P. (größere Plastizität). Die Kohäsionskräfte von Bienenwachs drücken sich im flüssigen Zustand durch dessen hohe Viskosität aus.

Aus der schematischen Zusammenstellung geht hervor, daß eine gewisse Beziehung zwischen Sprengung und Größe der Kristalle besteht (Tab. 2).

Die eher lockere Beziehung zwischen den Kristallen bei Mustern mit Sprengung manifestiert sich auch in der Spanform (s. u.). P.-Muster mit Sprengung geben im allgemeinen Späne mit deutlicher Aufblätterung und verhältnismäßig stark ausgeprägter Zählung, einzig bei Petroleumceresin-Zusatz (3) ist die Aufblätterung des Spanes verhältnismäßig sehr gering.

Zwischen Härte und Sprengung besteht kein direkter Zusammenhang.

### Kristallgefüge im Leerschnitt

Läßt man einen Tropfen der P.-Probe auf einem Objektträger in dünner Schicht sehr langsam, z. B. unter Bestrahlung durch eine Glühlampe, erstarren, sieht man in den Randpartien recht große Kristalle. Diese bilden bei Handels-P. (1) Sternfiguren mit gewöhnlich drei sehr schlanken, langen Zacken, welche teilweise mit den Nachbarkristallen anastomosieren. Die Zacken sind scharfrandig, verlaufen gerade oder leicht gedreht und weisen auf ihrer Oberfläche eine ziemlich genau median liegende Kante auf. Diese Grundform findet sich überall, doch wird die Größe und Feinheit der Spitzen durch die verschiedenen Zusätze modifiziert. So sieht man z. B. nach Stearin-zusatz besonders große, gerade Zacken (5 und 7), bei mehrfach gebrauchtem P. aber recht kleine Formen (8 und 9). Bei gewissen Zusätzen treten feinste, nur wenige  $\mu$  lange Nadeln, welche sich, je nach den Bedingungen, mehr auf den Oberkanten oder mehr zwischen den größeren P.-Kristallen einlagern, auf. Besonders deutlich ist diese Erscheinung bei hochprozentigen Zusätzen (5, 7 und 15), wo die Nadeln äußerst zahlreich in den interkristallinen Räumen liegen. Leicht nachweisbar ist sie auch bei Block 2 (Bienenwachs) und Block 6 (Bienenwachs und Mastix), etwas weniger bei Block 3 (Petroleumceresin). Bei mehrfach gebrauchtem P. mit Bienenwachs Zusatz (8—14) fanden sich ähnliche, jedoch weniger einheitliche, teilweise mehr körnige Einlagerungen. Beim Erstarren der Stearinnmischungen (5 und 7) kann man durch direkte mikroskopische Beobachtung im polarisierten Licht feststellen, daß sich zuerst die großen P.-Nadeln aufbauen und erst etliche Sekunden nachher die feinen dazwischengelagerten Nadeln auftreten, vorerst einzeln schwimmend, dann in festem Gefüge (Abb. 11 A). Im allgemeinen ist der Unterschied zwischen den beiden Nadelformen um so deutlicher, je langsamer die Erstarrung erfolgt. Nach plötzlichem Erstarren durch Abkühlen des Objektträgers im Wasserstrahl, findet man stark deformierte und gleichmäßig kleine nadelartige Gebilde (Abb. 11 B).

Obschon diese Art des Kristallaufbaues durch die Objektträgeroberfläche beeinflusst wird, zeigen Mikrotomleerschnitte im Prinzip dieselben Elemente. Freilich sind sie, besonders bei dünnen Schnitten, durch das Messer stark deformiert und beschädigt. Feinere Einlagerungen und Strukturen sind infolge optischer Grenzphänomene schwierig zu beurteilen.

Die Leerschnitte wurden alle mit einer Messerneigung von  $30^\circ$  ausgeführt und umfaßten die ganze Schnittfläche des Blockes. Mit der glänzenden Fläche nach unten

wurden diese Schnitte mit Wasser ohne Erwärmen auf Objektträger ausgebreitet. Schon beim Schneiden zeigten sich wesentliche Unterschiede. Während sich bei den einen Proben dicke Schnitte ( $20\text{--}30\text{ }\mu$ ) leicht anfertigen ließen und sich dünnere Schnitte ( $5\text{--}10\text{ }\mu$ ) plastisch zusammenschieben, bröckelten bei andern Mustern die dicken Schnitte regelmäßig durch querverlaufende Risse in kleine Stückchen auf. Dünne und dünnste Schnitte ließen sich dann aber leicht erzielen. In keinem Fall konnte man unter den gleichen Bedingungen dünne und dicke Schnitte schneiden.

Bei mikroskopischer Betrachtung im durchfallenden Licht mit und ohne Phasenkontrast sowie im polarisierten Licht erscheinen im Leerschnitt die P.-Kristalle als wirr sich durchflechtende Bänder. Die Querschnitte der einzelnen Elemente sind meist oval bis rund, die Enden mehr oder weniger stumpf. Bei Ab-

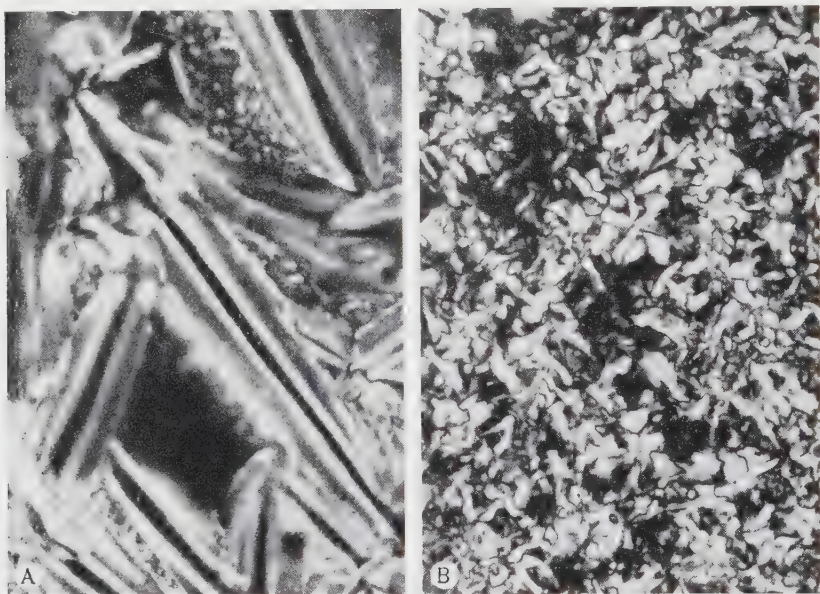


Abb. 11. Paraffintropfen in dünner Schicht auf Objektträger erstarrt. A: P. (Smp.  $60\text{--}61^\circ$ ) + 11% Stearin. Langsame Erstarrung. P.-Nadeln grob; dazwischengelagert sehr feine Stearinkristalle. B: gleiches Material; Erstarrung durch Wasserkühlung beschleunigt. Kristalle sehr klein, unregelmäßig geformt. Stearin nicht mehr als solches sichtbar. Pol.-opt. Aufn.; Ok. periplan 6; Obj. 44 (SPENCER); Schwingungsebenen parallel den Bildkanten.

blendung sieht man oft pro Band etwa fünf jahresringartig angeordnete, leicht wellig verlaufende, leuchtende Schichtungslinien. In die homogene Substanz sind, auch bei „reinem P.“, einzelne stark lichtbrechende, nadelförmige Gebilde eingestreut. Die Spalten sind bei einigen Proben schmal und nur bei starkem Abblenden sichtbar, in andern deutlich verbreitert.

Proben mit schlechter Durchsichtigkeit entsprechen Schnitten mit deutlich verbreiterten Spalten (5 und 7) oder ausgesprochen kleinen Einzelteilchen (8—15). Summierung beider Faktoren in weniger starker Ausprägung führt zu gleichem Ergebnis (2 und 6):

Erwartungsgemäß führt rasche Abkühlung zur Bildung kleinerer Kristalle. Gleichzeitig wird das Kristallbild undeutlicher, so daß Einzelteilchen als solche kaum mehr identifiziert werden können. Es erscheint als Mosaik von unregelmäßigen Körnchen. Auch bei Luftkühlung findet man in diesem Sinne einen deutlichen Unterschied zwischen peripheren und zentralen Partien.

Bei Zusatz von Bienenwachs (2) sind die Bänder verschmälert (trotz langsamem Erstarren), leicht, gewellt ziemlich lang und zum Zeil wie aufgefasert (Abb. 12 B). Die Spalten sind deutlich und mittelbreit. Wir finden in ihnen die oben beschriebenen kleinsten Nadeln. Nach mehrfachem Gebrauch des P. sind die Bänder noch schmaler und ziemlich locker angeordnet. Dazwischen sind zahllose kleinste, leicht gelbliche Körnchen eingestreut (8—14). Sehr schlanke bizarre Formen mit deutlicher Anastomosierung sieht man insbesondere nach Überhitzen des Gemisches (9).

Im Gegensatz dazu sind bei Stearin-, Mastix- (Abb. 12 A) und Petroleumceresinzusatz (3, 4, 5, 7) die Einzelteilchen scharf abgegrenzt, teils als ziemlich gestreckt verlaufende Bänder, teils mehr als unregelmäßige Bröckel. In den Kristallen sieht man mehr

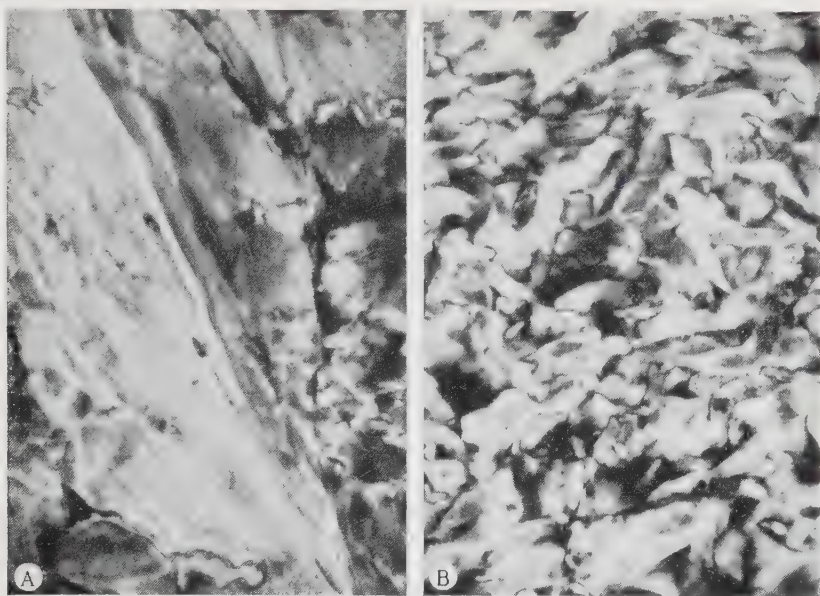


Abb. 12. Mikrotomschnitt durch Innenpartie des an Luft erstarrten Paraffinblockes. A: P. (Smp. 56—58°) + 1% Mastix. Schnittdicke 20  $\mu$ . Typisches Bild grober Struktur. In der unteren Bildhälfte großer Kristall mit geradlinigen Konturen. B: mehrfach gebr. P. mit Bienenwachs. Kristalle klein, dicht gelagert mit unregelmäßigen Konturen. Pol.-opt. Aufn.; Ok. periplan 6; Obj. 44 (SPENCER); Schwingungsebenen parallel den Bildkanten.

oder weniger viele, plumpe oder schlanke, kleinere oder größere, nadel- oder hantelförmige Einschlüsse. Die Spalten sind bei Petroleumceresin- und Mastixzusatz schmal (3 und 4), bei den Stearinmischungen (5 und 7) breit. Wir finden darin oft feinste dazwischengelagerte (Stearin-) Nadeln. Die grobe Struktur der Stearinmischungen wird durch Bienenwachs Zusatz ganz aufgehoben (15).

In der Tabelle Nr. 2 findet man die Werte der größten auf der Schnittfläche beobachteten Kristalle.

### Bruchfläche

Besonders günstigen Einblick in das Kristallgefüge bietet die Untersuchung der Bruchflächen. Mit kräftigem Messer wurde zuerst 1—2 cm tief eingeschnitten, wobei durch die Keilwirkung der Block zerbrach. Dies ließ sich bei den meisten Proben leicht machen, bei bienenwachshaltigen jedoch mußte regelmäßig durch gewaltsames Abkanten des Messers nachgeholfen werden.

Mit der Binokularlupe sieht man schöne Bilder. Die gewöhnliche Auflichtmikroskopie gibt nur einen unbefriedigenden Eindruck.

Wir sehen Übergänge von feinkörniger, sanft gewellter Fläche bis zu tief zerklüftetem, stark kristallinem Relief, wobei häufig ganze Nadelbüschel herausgebrochen sind. Die plumpesten, größten Nadeln finden sich im Zentrum der Blöcke nach Mastixzusatz (4). In den peripheren Anteilen stechen diese Nadeln aus einer feinkörnigen amorphen Masse heraus. Das Relief ist mittelstark wellig. Ähnliche Bilder, mit starker Zerklüftung, gibt reines P. (1). Als nächstes folgt P. mit Stearinzusatz (5). Hier ist die Fläche ausgesprochen zerklüftet, aus großen Nadeln und Prismen aufgebaut. Nach Petroleumceresin-Zusatz (3) erhält man ein ähnliches Bild. Die Nadeln

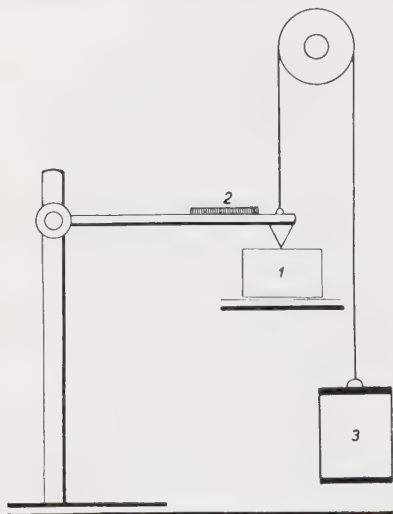


Abb. 13. Versuchsanordnung zur Messung der Härte von P.; 1 P.-Block, 2 Belastung des Hebelarmes, 3 Gegen-  
gewicht.

sind hier zum Teil plump, zum Teil aber fein und lang. Auch bei Kombination von P. mit Stearin, Spermacet und Petroleumceresin (7) bietet sich ein vorwiegend kristallines, stark welliges Relief. Die Nadeln sind fast gleich groß wie bei Block 5. Eine ausgesprochene Hemmung der Kristallisation wird durch Bienenwachs erreicht. Bienenwachs- und Mastixzusatz (6) macht das Gefüge im gesamten amorph und feinkörnig, wenngleich es infolge des Mastixzusatzes noch ziemlich zerklüftet ist und viele mittellange, schlanke Nadeln aufweist. Etwas weniger zahlreiche und recht schlanke Nadeln bei mäßiger Zerklüftung finden wir im Zentrum des relativ großen, langsam erstarrten Blockes aus mehrfach gebrauchtem P. mit Bienenwachs- und Mastixzusatz (10). Nach Bienenwachs- und Mastixzusatz zu frischem P. (2) entsteht eine fast rein amorphe Fläche, welche nach Überhitzung des P. (9) völlig feinkörnig wird und sehr niedrige regelmäßige Wellen aufweist. Die wenig erhabenen Wellenkämme sind leicht aufgeraut und leuchten weißlich auf gelblichem Grund.

### Härte

Die Härte wurde mit einer einfachen, speziell zu diesem Zwecke angefertigten Apparatur gemessen (Abb. 13). Mit einer kantig zugeschliffenen, durch Gewichtchen belasteten Nagelspitze wurden kleine, scharf begrenzte Dellen in die Schnittfläche eingepreßt, fünf in der Peripherie, etwa 2—3 mm vom seitlichen und unteren Rand entfernt, fünf im Zentrum, d. h. an Stellen halbwegs zwischen Mitte und seitlichem Rand, die der freien Oberfläche am entferntesten sind. Die Breite einer jeden Delle wurde mikroskopisch, mittels Okularmikrometers, bei starker seitlicher Beleuchtung

gemessen. Je größer die Härte, um so kleiner die Dellenbreite. Durch das Gegengewicht an der Apparatur läßt sich die Spitze leicht ohne nennenswerten Aufprall auf der Oberfläche aufsetzen. Sobald durch Heben des Gegengewichtes das Gewicht des Hebelarmes auf der Spitze ruht, entsteht eine in Ausdehnung und Form absolut gleichmäßige Delle. So einfach das System ist, so unumgänglich notwendig erwiesen sich zahlreiche Vorversuche mit Variation von Gewicht, Kantenwinkel, Form des Spitzenschliffes und Beleuchtung. Während bei den plastischen bienenwachshaltigen Mustern die Grenzen der Dellen leicht gemessen werden können, braucht es für andere, sprödere Mischungen geduldiges Ausprobieren obiger Variationsmöglichkeiten bis scharf begrenzte Dellen entstehen. Die Zahlen, die man erhält, stellen nur Vergleichswerte dar.

P. wird durch alle hier versuchten Zusätze gehärtet. Durch 5% Bienenwachs (2), 0,5% Petroleumceresin (3) und 1% Mastix (4) ungefähr in gleichem Maße, etwas weniger durch 11% Stearin (5). Stärkste Härtung ergab sich bei gleichzeitiger Beimengung von 1% Mastix und 5% Bienenwachs (6). Diese Mischung ist gleich hart wie P. (Smp. 60°C) mit 20% Stearin, 5% Spermacet und 0,3% Petroleumceresin (7).

Weicher als reines P. erwies sich mehrfach gebrauchtes P. (8) (spurenweise Anwesenheit von P.-Lösungsmitteln?), vor allem nach Überhitzung (9).

Interessant ist die Tatsache, daß sich die Randpartien des Blockes regelmäßig deutlich weicher erweisen als die zentralen Abschnitte. In der äußersten, etwa  $\frac{1}{2}$  cm breiten Schicht läßt sich ein kontinuierliches Härtegefälle feststellen. Auch bei Luftkühlung ist der Unterschied deutlich. Es besteht die feste Relation: Rasches Abkühlen — kleine Kristalle — weiche Konsistenz. Das Blockzentrum ist lediglich im Bereich der Sprengung weich, wo das lockere Kristallgefüge naturgemäß leicht einbricht (5). Es ergibt sich aus all diesem, daß die Kristallgröße und P.-Härte bei gleichem Material von folgenden Faktoren abhängt: Luftkühlung oder Wasserkühlung, Glas- oder Metallform, große oder kleine Blöcke, Blockzentrum oder Peripherie. In der Tabelle 3 sind die Nummern der Materialproben so geordnet, daß die Reihenfolge der abnehmenden Härte entspricht. Entsprechend nimmt im allgemeinen die Kristallgröße in den größeren und kleineren Blöcken ab.

Tabelle 3. Beziehung von Härte und Kristallgröße  
Bezeichnung der Blöcke siehe Tabelle 2

Beachte das Verhalten von reinem P. (1), P. mit Bienenwachs (2), P. mit Bienenwachs und Mastix (6).

| Abnehmende<br>Reihenfolge<br>der Härte | Abnehmende Reihenfolge der Kristallgröße |       |               |       |
|----------------------------------------|------------------------------------------|-------|---------------|-------|
|                                        | Großer Block                             |       | Kleiner Block |       |
|                                        | Breite                                   | Länge | Breite        | Länge |
| [6] 7                                  | 3                                        | 7     | 1             | 1     |
|                                        | 1                                        | 1     | 3             | 3 4   |
| 3                                      | 5                                        | 3     | 4             |       |
| (2)                                    | 4                                        | 4 [6] | 7 13          | 7     |
| 4                                      | 7                                        |       |               | 15    |
| 5                                      | [6]                                      | 8     | 15            | 13 5  |
| 1 8                                    | (2)                                      | 5     | (2)           |       |
|                                        | 10                                       | 10    | 5             | [6]   |
| 10                                     | 8                                        | 9     | [6]           | (2)   |
| 9                                      | 11                                       | (2)   | 8             | 8     |
| 11                                     | 12                                       | 11    | 14            | 14    |
| 12                                     | 9                                        | 12    | 9             | 9     |

Aus der tabellarischen Darstellung ist ersichtlich, daß sich für die verschiedenen Materialproben Länge und Breite der Kristalle ungefähr gleichsinnig verändern und daß die harten Mischungen große Kristalle aufweisen. Es gibt jedoch Ausnahmen: reines P. weist verhältnismäßig geringe Härte auf trotz recht großer Kristallform. Umgekehrt ist die Härte der Blockmischungen 6 (P. mit Bienenwachs- und Mastixzusatz) und 2 (P. mit Bienenwachs Zusatz) auffallend groß, trotz eher kleiner Kristallform.

### Spanbildung

Wenn man mit einem kleinen weichen Metallspatel sorgfältig Späne aus der Blockschnittfläche herausholt und auf gleichmäßige Kraftanwendung achtet, entstehen bei demselben Material gleichartige Späne, welche sich von Spänen aus anderem Material deutlich unterscheiden. Die eine der beiden Grundformen stellt ein glattes Band dar, mit feinkörniger Oberfläche und feiner stumpfer Zähnelung; in der Oberfläche zeichnen sich feinste querverlaufende Rißlinien ohne jegliche Dislokation ab. Beim anderen Typus ist das Band in dachziegelförmig übereinandergeschobene, ziemlich kurze Lamellen aufgesplittert: die Oberfläche ist stark kristallin und die Zähnelung lang und schlank. Je nach Material nähert sich die Spanform diesem oder jenem Extrem. Ob sich der Span dabei rollt, ist vor allem von der Spandicke abhängig. Der Vergleich dieser Späne ist recht aufschlußreich, ist doch der Mikrotomschnitt ein sehr feiner Hobelspan.

Beim Abschieben durch den Spatel kommt es zu einer ziemlich starken Abwinkelung der P.-Lamelle gegen die Blockebene. Je nach Plastizität, Elastizität und Zähigkeit entstehen nur feine Einrisse, oder aber die Abwinkelung führt zu Kontinuitätstrennung, und die so gebildete Schuppe wird durch das Messer etwas unter die nächstfolgende geschoben.

Dem ersten Typus mit glatter Oberfläche entsprechen die bienenwachshaltigen Späne aus mehrfach gebrauchtem P., insbesondere bei kleinen Blöcken (10–12). Bei großem Block und Luftkühlung in Glasform besteht keine Aufsplitterung, doch ist die Oberfläche nicht mehr feinkörnig, sondern kristallin, und die Randzacken sind etwas länger (8). Bienenwachs Zusatz zu frischem P. (2) vermag die Aufblätterung nicht ganz zu unterdrücken, auch nicht bei gleichzeitiger Mastixzugabe (6), die sich deutlich im Sinne einer zusätzlichen Hemmung der Aufsplitterung auswirkt. Petroleumceresin Zusatz (3) und Kombination mit Stearin und Spermacet (7) geben ähnliche Spanbilder, doch ist die Zähnelung ausgeprägter. Mastix allein (4) hemmt die Aufblätterung ungefähr in gleichem Maß wie Bienenwachs (2). Bei reinem P. (1) mit oder ohne Stearin Zusatz (5) erhält man den Prototyp des kristallinen Spanes mit Aufblätterung.

Zwischen Spanform und Härte scheinen keine einfachen Beziehungen zu bestehen, wohl aber zwischen Spanform, Bruchfläche und Kristallgröße.

### Grundlagen der Paraffin-Einbettungsmethode

Bei der P.-Einbettung geht es darum, ein in bezug auf Konsistenz und Elastizität uneinheitliches Gewebstück unter größter Schonung der ursprünglichen Struktur in einen möglichst homogenen Block umzuwandeln. Erst diese Einheitlichkeit erlaubt ganz dünne Schnitte herzustellen, ohne daß Verzerrungen, Risse, Quetschungen und Falten auftreten.

Der Umstand, daß sich P. nur sehr wenig mit Wasser mischt, bringt es mit sich, daß das Gewebe gewöhnlich in einer ersten Phase der Einbettung entwässert, dann in ein sich mit P. in jedem Verhältnis mischendes Übergangsmittel gebracht und dann erst mit flüssigem P. durchtränkt wird. Das Übergangsmittel ist deshalb nötig, weil auch der Alkohol, der sich als Entwässerungsmittel bestens bewährt, nicht ohne weiteres mit P. gemischt werden kann.

Wenn wir durch die üblichen Methoden der Entwässerung auch nicht das letzte Wassermolekül aus dem Gewebe herausbekommen, wird doch dessen Quellungs- und

Hydratationszustand so verändert, daß eine erhebliche Schrumpfung eintritt. Sie erfolgt in dem Maße, als die Funktion des Wassers gegenüber den Eiweißmolekülen und Molekülverbänden (Micellen) von der Ersatzflüssigkeit nicht übernommen werden kann. Wenn wir bedenken, daß diese Funktion in engstem Zusammenhang zu den Dipoleigenschaften des Wassermoleküls steht, werden wir uns über die empirische Beobachtung von SEKI (1937), daß die Schrumpfung um so geringer ist, je höher die DE-Konstante der Entwässerungsflüssigkeit liegt, nicht wundern. Die günstigsten Ergebnisse zeitigte diesbezüglich die aufsteigende Äthyl-Alkohol-Reihe mit einem Volumenverlust von etwa 5% (SEKI 1937).

Auch das Übergangsmittel ist für das Gewebe nicht indifferent. So beobachtet man, daß langes Verweilen der Präparate in Benzol und Benzol-P. das Gewebe hart macht und die Schneidbarkeit verschlechtert, daß nach Dioxanbehandlung die Schnitte weniger gut streckbar sind und daß das Überführen durch Chloroform für dotterreiches Material besonders günstig ist.

An Hand von quantitativen Untersuchungen an Leberschnitten konnte SEKI zeigen, daß für die Schrumpfung im Übergangsmittel neben der DEK auch die Temperatur von Bedeutung ist. Letzteres dürfte damit zusammenhängen, daß erhöhte Temperatur das Lösen von Intermolekularverbindungen und somit das Abgleiten und Ineinandergleiten der Teilchen begünstigt. Die Schrumpfung beträgt 1 bis 2% der ursprünglichen Länge in Äthyl-Alkohol bei 24stündigem Verweilen in den verschiedenen Übergangsmitteln bei 20°C. 2-stündiges Erhitzen auf 58°C erhöht diese Werte auf 3%. In Alkohol tritt trotz gleicher Temperaturerhöhung keine weitere Schrumpfung ein. Es liegt nahe, anzunehmen, daß durch das Erhitzen im Übergangsmittel die letzten Spuren Alkohol aus der Gewebssubstanz herausgelöst werden.

Der komplexe Charakter der sogenannten „Hitzeretraktion“ geht auch aus folgender Feststellung hervor. Durchtränkt man im Intermedium auf 58°C erwärmte Präparate mit flüssigem P. gleicher Temperatur, so tritt eine weitere Schrumpfung ein, die offenbar nicht auf das Konto der Temperatur geht. Sie beträgt nach SEKI (1937) je nach Übergangsmittel zwischen 4% (Dekalin) und 7% (Methylbenzoat). Geht man vom Alkohol ohne Intermedium in reines P. so beträgt unter sonst gleichen Bedingungen die Schrumpfung etwa 16%.

Aus diesen Tatsachen ist zu schließen, daß P. nicht imstande ist, die feinsten Gewebssstrukturen in gleichem Maße zu durchdringen wie die Intermedien. Die Durchtränkung ist wesentlich besser, wenn sich das P. mit dem Intermedium mischt. Es spielt die Temperaturerhöhung in bezug auf die Gewebsschrumpfung offenbar keine so wesentliche Rolle, wie vielfach angenommen wird.

Flüchtige Intermedien bedingen erfahrungsgemäß harte und trockene Schnitte (SEKI 1937, KRÜGER 1940, ROMEIS 1948). Die feinsten Spaltsysteme werden von verhältnismäßig viskösem P. nicht durchdrungen. Eine flüchtige Flüssigkeit wird nun eher durch das umgebende P. entweichen, so daß das Gewebe trocken und spröde wird.

Was sich beidirektem Überführen der Präparate aus sich mit P. nicht mischenden Flüssigkeiten zeigt, tritt im kleinen auf, wenn Spuren von Wasser oder Alkohol im Gewebe zurückbleiben. Die Präparate werden hart, sehen wie getrocknet oder wie gekocht aus und lassen sich schlecht schneiden (ROMEIS 1948, ROULET 1948). Bei ungenügendem Entspriten ist wohl die Viskosität des eindringenden P. durch Mischung mit dem Intermedium genügend herabgesetzt, doch halten die mit Alkohol benetzten Oberflächen der Spalten das gute Eindringen von P. hintan. Gleich schlechte Resultate gibt natürlich eine ungenügend lange Durchtränkung.

Während es bei der Entwässerung hauptsächlich um elektrische Ladungsverhältnisse, Entquellung und Dehydratation geht, stehen bei der P.-Durchtränkung Viskosität und Benetzung im Vordergrund. Darum soll die Durchtränkung bei genügend hoher Temperatur und nach genauem Entwässern und Entspriten erfolgen.

Die sonst eintretende Schrumpfung ist um so verhängnisvoller, weil dadurch elektiv die feinen Spalten betroffen werden.

Auf ähnlichen Überlegungen mag die Empfehlung mancher Autoren beruhen, zwischen Intermedium und flüssigem P. eine kaltgesättigte Lösung von P. im Intermedium und geschmolzenes Weich-P. (Smp. 35°C) einzuschalten. APATHY (1912) sieht diese Zwischenstufen als überflüssig an. Zugunsten der ersten Ansicht sprechen Untersuchungen von SEKI (1937). Die Schrumpfung ist bei Gebrauch von verschiedenen Intermedien verschieden ausgeprägt, am stärksten bei Toluol, am wenigsten bei Dekalin. SEKI untersuchte auch die Diffusionsgeschwindigkeit dieser Flüssigkeiten in P. unter Zwischenschaltung einer Membran. Die Intermedien diffundierten rascher als das P., Toluol am raschesten, Dekalin am langsamsten. Die Schrumpfung bei der Durchtränkung beruht z. T. wohl darauf, daß das Intermedium rascher aus dem Gewebe herausdiffundiert als P. einzudringen vermag, ein Nachteil, der durch Zwischenstufen weitgehend vermieden werden kann.

### Erstarrung und Schneidbarkeit

Im Rahmen unserer Versuche haben wir uns bemüht, die Bedeutung verschiedener Erstarrungsbedingungen zu erfassen. Die Wärmeleitfähigkeit von P. ist verhältnismäßig schlecht, so daß es nicht gelingt, einen größeren Block rasch ganz zum Erstarren zu bringen. Die peripheren Zonen weisen Zeichen rascher Kristallisation auf: kleine unregelmäßige Formen, feinkörnige Bruchfläche, geringe Härte. Im Blockzentrum finden sich große Kristalle, welche offensichtlich langsam auskristallisiert hatten. Bezüglich Härte können in demselben Block Unterschiede auftreten, wie zwischen zwei verschiedenen Materialproben. Der Unterschied ist natürlich um so größer, je größer der Block ist und je rascher die Peripherie abgekühlt wird. Jedoch auch bei Kühlung durch Luft von Zimmertemperatur und bei relativer Isolierung durch eine etwa 1½ mm dicke Glasform lassen sich die beiden Zonen in ihrem physikalischen Verhalten deutlich unterscheiden (1—9). Die nicht scharf abgrenzbare Mantelzone ist verschieden dick und mißt bei einem runden Block von 4½ cm Durchmesser und 3 cm Höhe, welcher in einer Glasform an der Luft langsam abgekühlt wurde, über der Basis und seitlich etwa 3,5 mm, an der Oberseite etwa 1,5 mm (4). Bei einem kleineren Block aus mehrfach gebrauchtem P. mit Bienenwachs (Durchmesser 3,5 cm, Höhe 2,5 cm) mißt die feinkörnige periphere Zone der Basis ebenfalls etwa 3,5 mm, seitlich etwas weniger, etwa 3,2 mm. Bei Luftkühlung in Metallform oder in dünner Glasform fanden sich keine wesentlichen Unterschiede. Abkühlung in fließendem Wasser bedingt eine leichte Vergrößerung der peripheren Zone. Diese mißt z. B. bei einem Block von 4 cm Durchmesser und 3 cm Höhe (11 und 12) an der Basis 5 mm, seitlich 4,2 mm, an der Oberfläche 1,5 mm. Wurde der Block untergetaucht, so beträgt die Dicke der peripheren Zone an der Oberfläche 3,3 mm. Ist die Form breit und niedrig, so gehen die feinkörnige Schicht der Oberseite und diejenige der Basis im Nabelbereich kontinuierlich ineinander über. Nur zwischen Außenseite und Nabel des Blockes treten grobe Kristalle auf.

Die Zahlen der Tabelle 2 für Härte und Kristallgröße geben bei Block 8 und Block 10—14 ein recht eindeutiges Bild vom Einfluß verschiedener Erstarrungsbedingungen. Die Zahlen lassen sich in die Regel fassen: Je rascher die Abkühlung, um so kleiner die Kristalle und um so geringer die Härte. Zwischen einem großen Block, welcher an der Luft in einer Glasform erstarrte (8), und einem um wenig kleineren Block, welcher an der Luft in einer Metallform abgekühlt wurde (10), besteht in dieser Hinsicht ein deutlicher Unterschied, besonders in den zentralen Partien. Der kleinere Block (10) weist gleichmäßigere Konsistenz auf; der Unterschied zwischen der Härte im Zentrum und in der Peripherie ist nur ungefähr halb so

groß. Derselbe Block (10: Luftkühlung in Metallform) weist gegenüber einem gleich großen Block, welcher in fließendem Wasser erstarrte (11) größere Unterschiede auf. Die Konsistenz ist hier weniger gleichmäßig. Wird der Block in fließendes Wasser untergetaucht, so ist die Konsistenz nur wenig weicher, und die Kristalle sind nur wenig kleiner (12). Block 13 ist ein Beispiel dafür, daß sich bei einer geringen P.-Menge trotz Glasform und ohne jegliches Abkühlen in Wasser auch im Blockzentrum recht kleine Kristalle bilden.

Zusammenfassend können wir feststellen, daß je nach Einbettungsstelle das Gewebstück in physikalisch recht verschiedenes Milieu gerät, in der Peripherie in relativ weiches, feinkörniges P., im Inneren der seitlichen Partien in relativ hartes P. mit grober Kristallisation. Ausgedehnte feinkörnige Zonen fanden sich nach Wasserkühlung in Metallform an der Basis. Sie erreichen eine Tiefe von etwa 5 mm und verdienen deswegen besonderes Interesse, weil sie am wenigsten Deformationen ausgesetzt sind. Auf dem Volumverlust bei Erstarrung beruht die Nabelbildung, wobei die ursprünglich gestreckt von Kante zu Kante verlaufende Oberflächenschicht muldenförmig eingezogen wird. In den oberen, der Deformation besonders ausgesetzten Partien treten Zug- und Abscherungskräfte auf. Die beim Erstarren noch plastischen Massen fügen sich diesen Kräften. Wenn jedoch in einer solchen Zone ein Gewebstückchen liegt, welches der Deformation einen weit größeren Widerstand bietet, muß es zu Sprenkelungserscheinungen führen. Das Gewebe wird sich dann nur allzuleicht vom umgebenden P. lösen. Beim Anfertigen des Blockes muß man darauf achten, daß das Gewebstückchen möglichst weit weg von der freien Oberfläche zu liegen kommt.

Eine wesentliche Eigenschaft des P.-Blockes ist die gute Schneidbarkeit des Objektes. Es wurden von den besprochenen P.-Mustern Blöcke mit Einbettung von je 2 Stückchen Rattendarm und Rattenleber angefertigt. Es sind dies Gewebe von recht verschiedener Schneidbarkeit. Um möglichst einheitliche und günstige Verhältnisse zu schaffen, wurde die Blockgröße herabgesetzt. Die Erstarrung erfolgte durch Abkühlung in runden Glasformen von 3,5 cm Durchmesser und 1,5 cm Höhe eine halbe Minute lang in fließendem Wasser von 15°C, dann an Luft von 18°C. Die Objekte lagen in der feinkörnigen Zone am seitlichen Rand sowie in der Mitte unterhalb des Nabels (infolge der Kleinheit des Blockes). Die so hergestellten 48 Blöcke wurden bei 23°C, 17°C und 16°C geschnitten, ferner bei 23 und 18°C, nachdem sie vorher in kaltem Wasser von 14°C gelegen hatten. Jedesmal wurde die geringste Dicke für gut brauchbare Schnitte ermittelt.

Weiche Blöcke ließen sich bei hoher Temperatur nicht oder nur schlecht schneiden. Bei niedriger Temperatur (16°C) ergaben harte wie weiche Proben recht gute Resultate, sofern man die harten nicht dicker als 10 µ schneiden wollte.

Bei 23°C Lufttemperatur ließen sich auch weiche Blöcke 5—7 µ dick schneiden, wenn man sie vorgängig in Wasser von 14°C abkühlte. Die Schneidbarkeit der harten Proben blieb durch eine solche vorgängige Abkühlung praktisch unbeeinflusst.

Die im allgemeinen günstigste Temperatur lag bei 16°C bzw. bei 18°C bei vorheriger Wasserkühlung.

*Block 1* P. 56—58°C: Recht gute Schnitte bei 16°C und 23°C ab 3—4 µ. Schnitte über 10 µ lassen sich bei 16°C kaum schneiden. Brüchigkeit der Schnitte mittel bis stark.

*Block 2* P. 56—58°C plus 5% Bienenwachs (Bw.): Bei 23°C außerordentlich schöne, jedoch nicht besonders dünne Schnitte (ab 4—5 µ). Bei 16°C schöne Schnitte ab 3 µ. Der Bw.-Zusatz äußert sich in einer vermehrten Biegsamkeit und Zähigkeit des Schnittes.

*Block 3* P. 56—58°C plus Petroleumceresin 0,5%: Sehr gute Schneidbarkeit. Bei 23°C relativ dünne Schnitte möglich (3—4 µ). Ausgezeichnete Schnitte ab 2 µ Dicke bei 16°C. Weniger gute Schnitte bei Schnittdicken von 15 µ und darüber. Brüchigkeit der Schnitte mittel.

*Block 4* P. 56—58°C plus Mastix 1%: Bei keiner Temperatur besonders günstig. Gute Schnitte ab 4 µ bei 23°C, bei 16°C ab 2 µ; schlechte Schneidbarkeit bei Schnittdicken von 10 µ und darüber. Brüchigkeit der Schnitte mittel bis stark.

*Block 5* P. 60—61°C plus 11% Stearin: Sehr gleichmäßige Schneidbarkeit. Gute Schnitte bei 23°C ab 3  $\mu$ , bei 16°C ab 2  $\mu$ . Hier auch dicke Schnitte ohne weiteres möglich. Einziger Nachteil starke Brüchigkeit der Schnitte.

*Block 6* P. 56—58°C plus 5% Bw. plus 1% Mastix: Zusätzliche Härtung durch Mastix erlaubt bei 23°C etwas dünnere Schnittstärke wie alleiniger Bw.-Zusatz (3—4  $\mu$ ). Dementsprechend sind die Schnitte von 10  $\mu$  und darüber bei 16°C sehr schlecht. Geringste Schnittstärke bei dieser Temperatur 3  $\mu$ . Die Zähigkeit und Biegsamkeit der Schnitte ist gegenüber Block 2 infolge Mastixzusatz etwas geringer.

*Block 7* P. 60—61°C plus 20% Stearin plus 5% Spermacet plus 0,3% Petroleumceresin: Sehr schöne und dünnste Schnitte bei 23°C (ab 2—3  $\mu$ !). Recht gute Schnitte bei 16°C ab 3—4  $\mu$ . Die Brüchigkeit der Schnitte ist hier, wie bei allen Stearinmischungen, relativ groß.

*Block 8 (und 13)* P. weich, mehrmals gebraucht plus Bw.: Ungeeignet für höhere Temperatur (23°C), auch nach vorgängiger Abkühlung in Wasser. Sehr günstig für 18°C und darunter. Hier ausgezeichnete Schnitte ab 3  $\mu$ . Schnitte zäh und biegsam. Block 13, weil nur luftgekühlt, bei 16°C schon ab 2  $\mu$  gut schneidbar.

*Block 9* wie Block 8 und 13, jedoch überhitzt: Ungeeignet für höhere Temperaturen. Sehr gute, zähe Schnitte bei 18 und 16°C ab 2  $\mu$ .

*Block 14* wie Block 8 und 13, jedoch Metallform und anhaltende Abkühlung in fließendem Wasser von 15°C: Bei 23°C unwesentlich besser wie Block 8 und 13. Bei 16°C schöne Schnitte ab 4  $\mu$ . Schnitte elastisch und zäh.

*Block 15* P. 60—61°C plus 5% Bw. plus 20% Stearin: Ausgezeichnete Schnitte bei 16°C von 2—15  $\mu$ . Auch bei 23°C sehr gute Schneidbarkeit ab 4  $\mu$ . Brüchigkeit der Schnitte mittel.

Reines P. ohne Zusatz eignet sich recht gut als Einbettungsmittel. Wenn der Smp. genügend hoch liegt, können noch bei 23°C befriedigende Schnitte hergestellt werden. Durch mehrfachen Gebrauch wird das P. weicher und geschmeidiger, doch ergeben sich Schwierigkeiten bei höheren Temperaturen.

In diesem Sinne ist die Zugabe eines „Härtungsmittels“ angezeigt. Die Wahl ist nicht gleichgültig. So erhält man nach Zugabe von Bw. besonders schöne, elastische, zähe Schnitte. Extrem dünne Schnitte lassen sich jedoch mit diesem Zusatz nicht erzielen. Durch Zugabe von Bw. und Mastix kommt man immerhin bei 23°C auf 3  $\mu$  Schnittstärke, doch werden dadurch die guten Eigenschaften des Bw. beeinträchtigt; auch wird ein solcher Block bei niederen Temperaturen leicht allzu hart.

Mastixzugabe allein bietet keine besonderen Vorteile.

Hervorragend dünne Schnitte ermöglicht der Zusatz von Stearin. Die Mischung mit Stearin, Spermacet und Petroleumceresin bewährt sich ausgezeichnet bei höherer Temperatur. Die Schnitte sind sehr schön, aber brüchig.

Überraschend gute Schnitte ergeben sich nach alleinigem Zusatz von 0,5% Petroleumceresin. Die gute Schneidbarkeit bleibt bei verschiedenen Temperaturen auffallend konstant. Die Brüchigkeit ist gering.

Durch gleichzeitige Zugabe von Bw. und Stearin lassen sich die guten Eigenschaften beider Zusätze nicht summieren. Bei 23°C ergeben sich recht schöne, leider nicht sehr dünne Schnitte. Bei 16°C war die Schneidbarkeit dieser Mischung wirklich ausgezeichnet. Die Schnitte sind sehr dünn, aber etwas brüchig.

Daß die Schneidbarkeit durch mehrfachen Gebrauch des P. besser wird, hat nur Gültigkeit, solange die Temperatur nicht allzu hoch ist. Es läßt sich keine bessere Schneidbarkeit feststellen, wenn der Block sehr rasch unter Wasser erstarrt.

## Ergebnisse

Die P. bestehen aus Kohlenwasserstoffketten von 20—35 Gliedern von der Formel  $C_n H_{2n+2}$ . Handels-P. ist ein Gemisch chemisch verschiedener P. Der Smp. liegt zwischen 38 und 70°C der Sdp. oberhalb 150°C. Ungefähr 15°C unterhalb des Smp., beim „Übergangspunkt“ der festen Phase, kommt es durch Umkristallisierung zu einer diskontinuierlichen Änderung mehrerer physikalischer Eigenschaften.

Die P.-Kristalle gehören dem hexagonalen, orthorhombischen, monoklinen und triklinen System an. Sie bilden beim Auskristallisieren Plättchen, Nadeln und uncharakteristische Formen.

Der Luftgehalt des P. beträgt 7—12 vol.%, bei Hart-P. mit Stearinzusatz etwas mehr.

Die Sprengung ist entweder durch den Erstarrungsprozeß oder durch die Beanspruchung der festen Masse auf Zug oder Abscherung bedingt. Wirksame Maßnahmen zur Verhinderung störender Sprengung sind das Anfertigen kleiner Blöcke, das Anordnen der Objekte auf dem Boden oder am Rand der Form, der Zusatz von Bienenwachs, ferner das Verhindern einer raschen Erstarrung der Blockoberfläche.

Verunreinigung mit Ölsubstanzen verringert den Brechwiderstand, Stearinzusatz erhöht den Brechwiderstand.

Viscositätsmessungen an P. von 50—51°C und P. von 60—61°C zeigen, daß niedrigschmelzendes P. geringere Viscosität hat. Mit ansteigender Temperatur nimmt bei allen P. die Viscosität ab. Im Hinblick auf eine optimale Durchtränkung soll ein möglichst niedrigschmelzendes P., eventuell mit Zusätzen, benützt werden.

Für die Schrumpfung des Objektes ist die Temperatur während der Einbettung von untergeordneter Bedeutung.

Rasches Abkühlen bedingt kleine Kristalle und geringe Härte. An kleinen Blöcken verbessert rasches Erstarren durch Wasserkühlung die Schneidbarkeit nicht. Mehrfacher Gebrauch des P. macht die Schnitte geschmeidig. Alle untersuchten Zusätze härten das P. beträchtlich und setzen die Kristallgröße herab. Bienenwachs bewirkt Bildung von zähen, elastischen Spänen und glatten Bruchflächen; es verhindert die Sprengung. Petroleumceresin hemmt die Aufblätterung der Späne ebenfalls, begünstigt jedoch die Bildung von großen Kristallen und die Sprengung. Die gute Schneidbarkeit dieses Materials weist darauf hin, daß es nicht wesentlich auf die Kleinheit der Kristalle ankommt. Die starke Aufblätterung der Späne bei Zusatz von reinem Stearin geht parallel mit der Sprödigkeit der Schnitte. Bienenwachs ist im allgemeinen der geeignetste Zusatz: Die Schnitte sind zäh, elastisch und relativ dünn (bei 16°C: 3  $\mu$ ; bei 23°C: 4—5  $\mu$ ). Bei höherer Temperatur ergibt Zusatz von Stearin kombiniert mit Spermacet und Petroleumceresin noch dünnere Schnitte (bei 23°C: 2—3  $\mu$ ); dabei muß ein P. mit höherem Smp. benützt werden. Bei Temperaturen unter 20°C kommt für mitteldicke Schnitte die Kombination Bienenwachs/Stearin in Frage.

Die untersuchten Proben, mit Ausnahme des Mastix, welches keine Vorteile bietet, lassen sich folgendermaßen ordnen:

|                                                                                                           |                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Geringe Wärmeempfindlichkeit, geringe Schnittdicke, aber relativ große Brüchigkeit der Schnitte.          |                                         |
| ↑                                                                                                         | Stearin, Spermacet und Petroleumceresin |
| ↑                                                                                                         | Stearin                                 |
| ↑                                                                                                         | Petroleumceresin                        |
| ↑                                                                                                         | Stearin und Bienenwachs                 |
| ↑                                                                                                         | Bienenwachs                             |
| ↓                                                                                                         | Überhitztes P. mit Bienenwachs          |
| Große Wärmeempfindlichkeit, relativ hohe Schnittdicke, aber große Zähigkeit und Elastizität der Schnitte. |                                         |

Mehrfacher Gebrauch verändert die Eigenschaften des Materials im Sinne geringerer Wärmesicherheit und größerer Biegsamkeit der Schnitte.

## Zusammenfassung

An Hand der englischen und amerikanischen Petrolliteratur und eigener Untersuchungen werden die physiko-chemischen Daten des Paraffins unter besonderer Berücksichtigung der für die histologische Technik wichtigen Eigenschaften zusammengestellt. Der Einfluß verschiedener Paraffinzusätze und verschiedener Erstarrungsbedingungen auf Sprengelung, Kristallgefüge, Härte und Schneidbarkeit wird eingehend untersucht. Am besten bewährt sich Bienenwachs als Zusatz.

## Summary

On the basis of English and American publications about petroleum and of his own investigations the author describes the physico-chemical facts and capacities of paraffin with special regard to the capacities which are important for histological technique. The influence of different admixtures and of different solidification conditions on the mottling, crystallization, hardness and capacity for cutting is carefully examined. The best admixture is beeswax.

## Literatur

*Boutaric A.*, Précis de Physique d'après les théories modernes. Paris, 4e éd. 1938, S. 210. — *Buchler C. C.* and *Graves G. D.*, The Petroleum Waxes. Industrial and Engineering Chem. 19 (1927): 718. — *Carpenter J. A.*, The Physical and Chemical Properties of Paraffin Wax, Particularly in the Solid State. J. Inst. Petrol. Technol. 12 (1926): 288. — *Dangl F.*, Über das Verhalten von Paraffin beim Erstarren. Mikrochemie 29 (1941): 87. — *Dempster W. T.*, Properties of Paraffin Relating to Microtechnique. Michigan Acad. Science, Arts, Letters. 29 (1943): 251. — *Ferris S. W.*, *Cowles H. C.*, *Henderson Ir.* and *L. M.*, Composition and Crystal Form of the Petroleum Waxes. Industrial and Engineering Chem. 23 (1931): 681. — *Ferris S. W.* and *Cowles H. C.*, Crystal Behavior of Paraffin Wax. Industrial and Engineering Chem. 37 (1945): 1054. — *Fussteig R.*, Studien über die physikalischen Eigenschaften von Paraffinwachs. Refiner Natur. Gasoline Manufacturers 16 (1937): 472. — *Gray C. G.*, The Phase Transformations of Normal Paraffins. Petroleum (London) 29 (1943): 226. — Derselbe, Note on the Relations between Needles and Plates. Petroleum (Holman) 7 (1944): 94. — *Groat R. A.*, Neues Imprägnierungs- und Einbettungsmittel für die Mikrotechnik. Science (New York) 93 (1941): 311. — *Hubbard B.*, Some Observations on the Optical Properties of Long Chain Normal Paraffins. Am. Mineral. 30 (1945): 645. — *Jackson W.*, Conductivity-Temperature Studies on Paraffin Waxes. Trans. Faraday Soc. 31 (1935): 827. — *Katz E.*, The Crystallisation of Paraffin Wax. J. Inst. Petrol. Techn. 16 (1930): 870; do. 18 (1932): 37. — *Kisser J.*, Die Bestimmung des Schmelzpunktes der Paraffine und die Herstellung von Paraffinmischungen von bestimmtem Schmelzpunkt. Z. für wiss. Mikroskopie 44 (1927): 452. — *Koch J. R.*, *Hable G. J.* and *Wrangell L.*, Melting Point Studies of Binary and Ternary Mixtures of Commercial Waxes. Industrial and Engineering Chem., Anal. Ed. 10 (1938): 166. — *Lord H. D.*, Thermometric Determination of Transition points in Paraffin Wax. J. of the Institute of Petroleum 25 (1939): 263. — *Müller A.*, An X-Ray Invest. of n-Paraff. near their m. p. Proc. Roy. Soc., London. Ser. A. 138 (1952): 514; do. 120 (1928): 437; do. 127 (1930): 417. — *Nádai A.*, Plasticity, a Mechanics of the Plastic State of Matter. New York 1931. — *Nelson W. C.* and *Stewart L. D.*, Effect of Oil on Plastic Properties of Petr. Waxes and Development of Plasticity Tests. Oil Gas J. 46 (1947): 121. — *Piper S. H.*, Biochem. J. 25 (1931): 2072. — *Prager B.* und *Jacobson P.*, Beilsteins Handbuch der organischen Chemie I, 4. Aufl., Berlin 1918. — *Rhodes F. H.*, *Mason C. W.* and *Sutton W. R.*, The Crystallisation of Paraffin Wax. Ind. Engin. Chem. 19 (1927): 935. — *Richter-Anschütz R.*, Chemie der Kohlenstoffverbindungen I. 12. Aufl., Leipzig 1928. — *Ronneis B.*, Mikroskopische Technik. München 1948. — *Roulet Fr.*, Methoden der pathologischen Histologie. Wien 1948. — *Scott-Harley C. R.*, Transition Effects in Paraffin Wax. J. of Institute of Petroleum 25 (1939): 238. — *Seki M.*, Untersuchungen mit nicht wäßrigen Flüssigkeiten. II. Schrumpfung von fixierten Geweben während der Überführung vom Wasser bis in Paraffin. Z. f. Zellf. 26 (1937): 321. — *Seyer W. F.* and *Kuramitsu I.*, Paraffin-Wax. Industrial Engineering Chemistry 27 (1935): 367. — *Seyer W. F.*, *Patterson R. F.* and *Keays J. L.*, The Density and Transition Points of the n-Paraffin-Hydrocarbons. J. of the American Chem. Soc. 66 (1944): 179. — *Ullmann Fr.*, Enzyklopaedie der technischen Chemie. Ed. 2, Berlin-Wien, 1928. Bd. 2, S. 611 und Bd. 4, S. 573. — *Waeber A.*, Notes critiques sur l'étalement et les déformations des coupes à la paraffine. C.-R. de l'assoc. anat., Lyon, 3 (1901): 73. — *Waterman H. C.*, The Preparation of Hardened Embedding Paraffins Having Low Melting Points. Stain Technol. 14 (1939): 55. — *Yannaquis N.*, Sur le polymorphisme des paraffines. Acad. des Sciences, Paris 1933, S. 784.

(Manuskript eingegangen am 17. April 1953)

*Anschrift des Verfassers:* Modeste Piller, Fribourg, Anatomisches Institut d. Universität (Schweiz).

*Über neue Forschungen und Fortschritte*  
auf dem Gesamtgebiet der Bodenkultur findet der Fachmann wertvolle  
Veröffentlichungen in der Zeitschrift

## **DIE BODENKULTUR**

**Österreichisches Zentralorgan der Landwirtschaftswissenschaften  
und Ernährungsforschung**

Herausgegeben von der Hochschule für Bodenkultur gemeinsam mit dem Bundesministerium  
für Land- und Forstwirtschaft in Wien

Redigiert von Prof. Dipl.-Ing. Dr. Anton STEDEN (Chefredakteur) und Sektionschef Dipl.-Ing.  
Dr. Rudolf LEOPOLD

*Mit der Beilage „Das Schrifttum der Bodenkultur“*

Redigiert von Dr. S. FRAUENDORFER, Bibliotheksdirektor

*6. Jahrgang (1952). Jährlich 4 Hefte im Umfang von etwa 120 bis 160 Seiten.  
Reich illustriert. Einzelheft DM/sfr. 9.—, Jahresbezug DM/sfr. 35.—*

Namhafte Fachleute der Landwirtschaft, Kulturtechnik und Ernährungswissenschaft veröffentlichen in dieser Zeitschrift laufend Originalbeiträge über Pflanzenzüchtung, Acker- und Pflanzenbau, Garten- und Obstbau, Tierzucht und Milchwirtschaft, Betriebswirtschaft und Statistik, neue Geräte und Arbeitsmethoden, landwirtschaftliches Schul- und Förderungswesen, Agrarpolitik und Ernährungsforschung, immer unter dem Gesichtspunkte, daß durch deren Verwertung in der Praxis gesteigerte Leistungen und Erträge erzielt werden können. Berichte und Mitteilungen aus Forschung und Praxis des In- und Auslandes, Referate über wichtige einschlägige Veröffentlichungen in anderen Zeitschriften sowie Besprechungen neu erschienener Fachbücher ergänzen die Darbietungen dieser auf hohem Niveau stehenden Zeitschrift.

## **Das Schrifttum der Bodenkultur**

**Bibliographische Mitteilungen aus dem Gesamtgebiet der Land- und  
Forstwirtschaft und ihren Nebengebieten**

Herausgegeben im Auftrage der Hochschule für Bodenkultur in Wien von der Hochschulbibliothek  
redigiert von Dr. S. FRAUENDORFER, Bibliotheksdirektor

*4. Jahrgang (1952). Jährlich 4 Hefte zu 24 Seiten. Einzelheft DM/sfr. 2.20,  
Jahresbezug DM/sfr. 8.—*

### **Das Schrifttum der Bodenkultur**

enthält Originalaufsätze, Forschungsberichte, Buchbesprechungen, laufende Bibliographien der Zeitschriftenliteratur mit besonderer Berücksichtigung Österreichs und der Schweiz und der Dissertationen, Neuerwerbungen der Hochschulbibliothek;

behandelt alle Zweige der Land- und Forstwirtschaft, einschließlich Kulturtechnik, Gärungsgewerbe und sonstige Nahrungsmittelindustrien, Ernährungsfragen sowie die dazugehörigen Grund- und Hilfswissenschaften;

wendet sich an den gebildeten Praktiker, an den Wissenschaftler, an den Fachlehrer, an den Agrar- und Forstpolitiker, an Fachbeamte und alle Hochschulabsolventen;

dient als Bindeglied zwischen der österreichischen Wissenschaft und Forschung und den entsprechenden Fachkreisen des Auslandes durch vollständiges Erfassen des inländischen Schrifttums und durch auswahlweise Berichterstattung über die ausländische Literatur.

**VERLAG GEORG FROMME & CO. IN WIEN**

# *Sonderbände der Zeitschrift »MIKROSKOPIE«*

Herausgegeben von Dr. Fritz BRÄUTIGAM und Prof. Dr. Alfred GRABNER

## *1. Sonderband*

### **Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie**

Herausgegeben von Dr. Fritz BRÄUTIGAM und Prof. Dr. Alfred GRABNER

*1949. 150 Seiten mit 26 Abbildungen (davon 20 Farbbilder). DM/sfr. 26.—*

Arbeiten von F. BRÄUTIGAM, A. GRABNER, H. EPPINGER, H. HABERLANDT, K. HÖFLER, A. KÖHLER, Th. MÜLLNER-HAITINGER, V. PATZELT, S. STRUGGER, H. ZIEGENSPECK.

## *2. Sonderband*

### **Das Mikroskop und seine Nebenapparate im Dienst der Naturwissenschaften, Medizin und Technik**

Von Prof. Dr. Viktor PATZELT, Wien

**Mit einem Beitrag über Polarisationsmikroskopie**

Von Prof. Dr. Franz RAAZ, Wien

*1950. 162 Seiten mit 118 Abbildungen (davon 4 Farbbilder). DM/sfr. 18.—*

Dieser Leitfaden will, wie schon der Titel besagt, jeden, der mit dem Mikroskop arbeitet, mit den mechanischen und optischen Bestandteilen des Mikroskops genauestens vertraut machen und ohne besondere mathematische Voraussetzungen auch die Theorie der Bildentstehung und der Auflösungsbedingungen verständlich machen. Diese Kenntnisse werden dem Naturwissenschaftler, dem Mediziner und dem Techniker die wissenschaftlichen Grundlagen für seine mikroskopischen Untersuchungen liefern, so daß er sein Instrument richtig verwenden und voll ausnützen kann. Aus diesem Grunde werden neben allen gebräuchlichen mikroskopischen Untersuchungsmethoden auch die spezielleren, wie Ultraviolettmikroskopie, Elektronenmikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie, Ultramikroskopie, Phasenkontrastmikroskopie und Auflichtmikroskopie, eingehend behandelt und mit Beispielen aus allen Wissensgebieten belegt. Mit Rücksicht auf die auch in der Biologie wie überhaupt in allen wissenschaftlichen Disziplinen sich immer mehr verbreitenden Untersuchungen im polarisierten Licht ist dem Leitfaden ein Beitrag über Polarisationsmikroskopie von Prof. RAAZ hinzugefügt worden, der in klarer und übersichtlicher Weise mit den Grundbegriffen der Polarisationsmikroskopie vertraut macht und die bisherige Scheu vor den Untersuchungen im polarisierten Licht überwinden hilft. Der Sonderband ist mit einer großen Anzahl erstklassiger Abbildungen, die zu einem guten Verständnis erforderlich sind, ausgestattet und enthält Literaturhinweise, die hauptsächlich aus der neuesten Zeit stammen.

## *3. Sonderband*

### **Mikroskopische und chemische Beiträge zum Krebsproblem**

**Mit besonderer Berücksichtigung der zytologischen Krebsdiagnostik**

Redigiert von Prof. Dr. Carmen CORONINI, Wien

*1949. 108 Seiten mit 61 Abbildungen (davon 5 Farbbilder). DM/sfr. 23.—*

Diese in einem Sonderband zusammengefaßten Arbeiten namhafter in- und ausländischer Forscher stellen einen wertvollen Beitrag zum Krebsproblem dar. In kurzen und übersichtlichen Mitteilungen wird der neueste Stand der Krebsforschung auf mikroskopischem Gebiet beleuchtet, wobei die zytologische Krebsdiagnostik eingehende Berücksichtigung findet. Das Buch ist auf Kunstdruckpapier gedruckt, wodurch die Reproduktionen tadellos zum Ausdruck kommen.

VERLAG GEORG FROMME & CO. IN WIEN



